

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 423 930**

51 Int. Cl.:

G01N 33/543 (2006.01)

B01L 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.02.2008** **E 08729498 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2013** **EP 2111554**

54 Título: **Dispositivos actuadores de gotitas y métodos que emplean perlas magnéticas**

30 Prioridad:

09.02.2007 US 900653 P

04.09.2007 US 969736 P

17.10.2007 US 980772 P

17.10.2007 US 980762 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

25.09.2013

73 Titular/es:

ADVANCED LIQUID LOGIC, INC. (100.0%)
P.O. BOX 14025 615 DAVIS DRIVE, SUITE 800
RESEARCH TRIANGLE PARK NC 27709, US

72 Inventor/es:

SISTA, RAMAKRISHNA;
PAMULA, VAMSEE K.;
POLLACK, MICHAEL G.;
SRINIVASAN, VIJAY y
ECKHARDT, ALLEN E.

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 423 930 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Dispositivos actuadores de gotitas y métodos que emplean perlas magnéticas

3 Campo de la Invención

La presente invención se refiere generalmente al campo de actuadores de gotitas, y en particular a actuadores de gotitas configurados para conducir protocolos basados en gotitas que requieren operaciones de gotitas para ser conducido que utilizan gotitas que comprenden perlas, especialmente perlas magnéticamente sensibles. La invención se refiere también a métodos de fabricación y utilización de tales actuadores de gotitas.

4 Antecedentes de la Invención

Los actuadores de gotitas son utilizados para llevar a cabo una gran variedad de operaciones de gotitas. Un actuador de gotitas típicamente incluye un sustrato asociado con electrodos para llevar a cabo las operaciones de gotitas en una superficie de operaciones de gotitas del mismo y también puede incluir un segundo sustrato dispuesto en de una forma generalmente paralela con relación a la superficie de operaciones de gotitas para formar una separación en la que se efectúan las operaciones de gotitas. La separación típicamente está rellena de un fluido rellador que es inmiscible en el fluido que va a ser sometido a operaciones de gotitas sobre el actuador de gotitas.

En algunas aplicaciones del actuador de gotitas existe una necesidad de utilizar “perlas” para diversos ensayos. Para protocolos que hacen uso de perlas, las perlas se utilizan típicamente para unir una o más sustancias objetivo en una mezcla de sustancias. Las sustancias objetivo pueden, por ejemplo ser analitos o contaminantes. Existe una necesidad de un enfoque eficiente para el lavado de perla en un actuador de gotitas para reducir la cantidad de una o más sustancias en la gotita que contiene perlas que puede estar en contacto con o expuesta a la superficie de la perla o perlas.

NICOLE WEAVER: “Application of magnetic microspheres to pyrosequencing on a digital microfluid platform” [Online] 2005, XP002485691 (Recuperado de Internet:

URL: http://ece.duke.edu/undergrads/IndStudy05/Weaver_Rpt2005.pdf [recuperado el 23-06-2008]) y WO2007/120240 [publicado después de los datos de prioridad reivindicados por la presente solicitud] exponen el uso de imanes para inmovilizar perlas magnéticas en pirosecuenciación de microfluído de base de gotita, estando los imanes situados o bien encima o bien debajo de la gotita.

5 Breve Descripción de la Invención

La invención, como está definida en las reivindicaciones adjuntas, proporciona la inmovilización eficiente de perlas de sensibles magnéticamente para operaciones de gotitas que hacen uso de perlas sensibles magnéticamente en aplicaciones con base de gotita. Ejemplos incluyen ensayos que requieren la ejecución de protocolos de lavado de perlas, tales como aplicaciones de pirosecuenciación e inmunoensayos. En un ejemplo, la invención proporciona técnicas que empujan fuerzas magnéticas para inmovilizar perlas sensibles magnéticamente durante operaciones de división de gotita. Las técnicas de la invención son particularmente útiles en protocolos para el lavado de perlas magnéticamente sensibles dentro de un actuador de gotitas. Entre otras ventajas, las técnicas de la invención evitan el agrupamiento o agregación excesivos de las perlas magnéticamente sensibles. Durante las operaciones de dividido, las técnicas pueden útilmente inmovilizar sustancialmente todas las perlas magnéticamente sensibles dentro de una gotita. Las técnicas de la invención pueden asegurar la inmovilización y retención de sustancialmente todas las perlas magnéticamente sensibles durante una operación de lavado de gotita. Después de finalizar el proceso de lavado, las técnicas de la invención aseguran la resuspensión de sustancialmente todas las perlas magnéticamente sensibles dentro del líquido y sin sustancialmente agrupamiento ni agregación de las mismas.

6 Definiciones

Los siguientes términos, como se han empleado aquí tienen los significados indicados.

“Activar” con referencia a uno o más electrodos significa efectuar un cambio en el estado eléctrico de uno o más electrodos lo que da lugar a una operación de gotita.

“Perla” con respecto a perlas en un actuador de gotitas, significa cualquier perla o partícula que es capaz de interactuar con una gotita en o en las proximidades de un actuador de gotitas. Las perlas pueden tener cualquier tipo de forma, tales como esféricas, generalmente esféricas, forma de huevo, forma de disco, cúbicas u otras formas tridimensionales. La perla puede, por ejemplo, ser capaz de ser transportadas en una gotita o sobre un actuador de gotitas o ser configurada de otro modo con respecto a un actuador de gotitas de manera que permite que una gotita sobre el actuador de gotitas sea llevado a contacto con la perla, sobre el actuador de gotitas y/o separado del actuador de gotitas. Las perlas pueden ser fabricadas utilizando una amplia variedad de materiales, incluyendo por ejemplo resinas y polímeros. Las perlas pueden tener cualquier tamaño adecuado, incluyendo por ejemplo, micropérlas, micropartículas, nanopérlas y nanopartículas. En algunos casos, las perlas son sensibles magnéticamente; en otros casos, las perlas no son sensibles magnéticamente de forma significativa. Para perlas

sensibles magnéticamente, el material magnéticamente sensible puede formar el total de la perla o sólo un componente de una perla. El resto de la perla puede incluir, entre otras cosas, material polímero, revestimientos, y fracciones que permiten la unión de reactivo de ensayo. Ejemplos de perlas sensibles magnéticamente se describen en la Publicación de Patente de Estados Unidos N° 2005-0260686, titulada "Multiplex flow assays preferably with magnetic particles as solid phase" publicada el 24 de Noviembre de 2005. Las perlas pueden incluir una o más poblaciones de células biológicas adheridas a las mismas. En algunos casos, las células biológicas son una población sustancialmente pura. En otros casos, las células biológicas incluyen diferentes poblaciones, por ejemplo, poblaciones de células que interactúan entre sí.

"Gotita" significa un volumen de líquido en un actuador de gotitas que está al menos parcialmente, unido por un fluido relleno. Por ejemplo, una gotita puede estar completamente rodeada por un fluido relleno o puede estar delimitado por un fluido relleno y una o más superficies del actuador de gotitas. Las gotitas pueden adoptar una amplia variedad de formas: ejemplos no limitativos incluyen formas generalmente de disco, formas de bala, esfera truncada, elipsoide, esférica, estera parcialmente comprimida, semiesférica, ovoide, cilíndrica, y diversas formas conformadas durante las operaciones de gotitas, tales como la fusión o división o formadas como resultado del contacto de tales formas con una o más superficies de un actuador de gotitas.

"Operación de gotita" significa cualquier manipulación de una gotita en un actuador de gotitas. Una operación de gotita puede incluir, por ejemplo: cargar una gotita en el actuador de gotitas; dispensar una o más gotitas desde una gotita de fuente; dividir, separar o partir una gotita en dos o más gotitas; transportar una gotita desde una posición a otra en cualquier dirección; fusionar o combinar dos o más gotitas en una única gotita, diluir una gotita; mezclar una gotita; agitar una gotita; deformar una gotita; retener una gotita en su posición; incubar una gotita; calentar una gotita; vaporizar una gotita; enfriar una gotita; deshacerse de una gotita; transportar una gotita fuera de un actuador de gotitas; otras operaciones de gotitas descritas aquí; y/o combinaciones de las anteriores. Los términos "fusionar", "fusión", "combinar", "combinación" y similares son utilizados para describir la creación de una gotita a partir de dos o más gotitas. Se ha de entender que cuando se utiliza tal término con referencia a dos o más gotitas, se puede utilizar cualquier combinación de operaciones de gotitas suficiente para dar lugar a la combinación de dos o más gotitas en una gotita. Por ejemplo "fusionar una gotita A con una gotita B" se puede conseguir transportando la gotita A hasta entrar en contacto con la gotita estacionaria B, transportando la gotita B hasta entrar en contacto con la gotita estacionaria A, o transportando las gotitas A y B hasta que entren en contacto entre sí. Los términos "partición", "separación" y "división" no están destinados a implicar ningún resultado particular con respecto al tamaño de los gotitas resultantes (es decir, el tamaño de los gotitas resultantes puede ser el mismo o diferente) o el número de gotitas resultantes (el número de gotitas resultantes puede ser 2, 3, 4, 5 ó más). El término mezcla se refiere a operaciones de gotitas que dan lugar a una distribución más homogénea de uno o más componentes dentro de una gotita. Ejemplos de operaciones de gotitas de "carga" incluyen carga de microdiálisis, carga asistida por presión, carga robótica, carga pasiva y carga de pipeta.

"Inmovilizar" con respecto a perlas magnéticamente sensibles, significa que las perlas son sustancialmente retenidas en posición en una gotita o en un fluido relleno sobre un actuador de gotitas. Por ejemplo, en una realización, las perlas inmovilizadas son suficientemente retenidas en posición para permitir la ejecución de una operación de partición de una gotita, produciendo una gotita con sustancialmente todas las perlas y una gotita que sustancialmente carece de perlas.

"Magnéticamente sensible" significa sensible a un campo magnético. "Perlas magnéticamente sensibles" incluyen o están compuestas de materiales magnéticamente sensibles. Ejemplos de materiales magnéticamente sensibles incluyen materiales paramagnéticos, materiales ferromagnéticos, materiales ferrimagnéticos, y materiales metamagnéticos. Ejemplos de materiales paramagnéticos adecuados incluyen hierro, níquel y cobalto así como óxidos de metal, tales como Fe_3O_4 , $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$, CoO , NiO , Mn_2O_3 , Cr_2O_3 y CoMnP .

"Lavado" con respecto a lavar una perla magnéticamente sensible significa reducir la cantidad y/o concentración de una o más sustancias en contacto con la perla magnéticamente sensible o expuesta a la perla magnéticamente sensible a partir de una gotita en contacto con la perla magnéticamente sensible. La reducción en la cantidad y/o concentración de la sustancia puede ser parcial, sustancialmente completa, o incluso completa. La sustancia puede ser cualquiera de una amplia variedad de sustancias; ejemplos incluyen sustancias objetivo para análisis adicional, y sustancias no deseadas, tales como componentes de una muestra, contaminantes, y/o reactivos de exceso. En algunas realizaciones, una operación de lavado empieza con una gotita inicial en contacto con una perla magnéticamente sensible, en la que la gotita incluye una cantidad inicial y una concentración inicial de una sustancia. La operación de lavado puede continuar utilizando una gran variedad de operaciones. La operación de lavado puede producir una gotita que incluya una perla magnéticamente sensible, en donde la gotita tenga una cantidad y/o concentración total de la sustancia que es menor que la cantidad y/o concentración inicial de la sustancia. Otras realizaciones también se describen aquí, y todavía otras se harán inmediatamente evidentes de la presente invención.

Los términos "superior" e "inferior" se utilizan en toda la descripción con referencia a las superficies superior e inferior del actuador de gotitas sólo por comodidad, tal que el actuador de gotitas es funciona en lo que se refiere a su posición en el espacio.

5 Cuando un componente dado, tal como una capa, región o sustrato, está referido aquí que está dispuesto o formado "sobre" otro componente, ese componente dado puede estar directamente sobre el otro componente o, alternativamente, también se puede evitar la intervención de componentes (por ejemplo, uno o más revestimientos, capas, intercapas, electrodos o contactos). Se entenderá también que los términos "dispuesto sobre" y "formado sobre" son utilizados intercambiamente para describir cómo un componente dado es colocado o situado con relación a otro componentes. Por tanto, los términos "dispuesto sobre" y "formado sobre" no están destinados a introducir ninguna limitación con relación a los métodos particulares del transporte de material, deposición o fabricación.

10 Cuando un líquido de cualquier forma (por ejemplo, una gotita o un cuerpo continuo, si se mueve o es estacionario) se describe como estando "sobre" o "en" o "encima" de un electrodo, disposición, matriz o superficie, tal líquido podría estar o bien en contacto directo con el electrodo/disposición/matriz/superficie, o podría estar en contacto con una o más capas o películas que están interpuestas entre el líquido y el electrodo/disposición/matriz/superficie.

15 Cuando se describe una gotita estando "sobre" o "cargado sobre" un actuador de gotitas, se ha de entender que la gotita está dispuesta en el actuador de gotitas de una manera que facilita el uso del actuador de gotitas para llevar a cabo una o más operaciones de gotitas sobre la gotita, la gotita está dispuesta sobre el actuador de gotitas de una manera que facilita de detección de una propiedad o de una señal procedente de la gotita, y/o la gotita ha sido sometida a una operación de gotita sobre el actuador de gotitas.

7 Breve Descripción de los Dibujos

20 Las Figuras 1A y 1B ilustran primera y segundas vistas superiores, respectivamente, de una parte de un actuador de gotitas en uso durante una primera y segunda fase, respectivamente de una operación de partición de gotita;

las Figuras 2A y 2B ilustran unas vistas lateral y superior de una sección de una actuador de gotitas que incluye un imán que está situado en una posición que está alejada de la zona de partición;

la Figura 3 ilustra una vista lateral de una sección de una actuador de gotitas que incluye dos imanes que están dispuestas encima y debajo de la gotita;

25 las Figuras 4A y 4B ilustran vistas laterales de una sección de un actuador de gotitas que incluye cuatro imanes que están dispuestos en posiciones que rodean la gotita;

las Figuras 5A y 5B ilustran una primera y una segunda vistas superiores, respectivamente, de una sección de una actuador de gotitas durante una primera y una segunda fase, respectivamente de una operación de partición de gotita;

30 la Figura 6 ilustra una vista lateral de una sección de un actuador de gotitas que incluye un campo magnético para reducir el paso de campos magnéticos;

la Figura 7 es una vista superior de una sección de un actuador de gotitas que incluye una imán que tiene polos que están dispuestos de forma opuesta para reducir el paso de campos magnéticos;

35 la Figura 8 ilustra un mapa de campos magnéticos que están dispuestos en una relación tal como la mostrada en la Figura 7;

La Figura 9 ilustra una vista superior de una sección de un actuador de gotitas dispuesto para reducir el remanente en una región de detección de gotita;

las Figuras 10A y 10B ilustran una vista superior de una sección de un actuador de gotitas configurado para reducir el remanente;

40 las Figuras 11A, 11B y 11C ilustran vistas laterales de la sección de una actuador de gotitas configurado para mejorar la sensibilidad de la detección de gotita;

la Figura 12 ilustra una vista superior de una sección de un actuador de gotitas configurado para mejorar la sensibilidad de la detección de gotita;

45 la Figura 13 ilustra una vista lateral de una sección de una actuador de gotitas configurado para mejorar la sensibilidad de detección de gotita;

las Figuras 14A y 14B ilustran vistas laterales de un conjunto de actuador de gotitas modular, que proporciona un conjunto universal para orientar un conjunto de imán a un actuador de gotitas; y

la figura 15 ilustra una vista lateral de un conjunto actuador de gotitas modular, que es otra ejemplo no limitativo de conjunto universa para orientar un conjunto de imán a un actuador de gotitas.

8 Descripción Detallada de la Invención

La presente invención se refiere a métodos de utilización de actuadores de gotitas para inmovilizar magnéticamente perlas magnéticamente sensibles. Como ejemplo, los métodos son útiles para inmovilizar perlas en gotitas sobre actuadores de gotitas, por lo que se facilita la ejecución de protocolos que requieren la inmovilización de tales perlas, tales como protocolos de lavado de perla.

8.1 Pérdida de Perla Durante la Partición de Gotitas

Las Figuras 1A y 1B ilustran primera y segundas vistas, respectivamente, de un actuador de gotitas 100 en uso durante una primera y una segunda fases, respectivamente, de una operación de partición de gotita. El actuador de gotitas 100 hace uso de una disposición que no está adecuadamente dispuesta para partir de forma eficiente una gotita utilizado la técnica específica mostrada son pérdida de perlas magnéticamente sensibles. El actuador de gotitas 100 incluye un primer sustrato 110 y un segundo sustrato (no mostrado) dispuesto con una separación entre los mismos, que sirve como una trayectoria de fluido. El primer sustrato 110 incluye un conjunto de electrodo de operación de gotita 112 configurados para realizar las operaciones de gotitas sobre la gotita con forma de bala 114, que está suspendido en un fluido rellenedor y que incluye perlas sensibles magnéticamente 116. Un imán 118 puede estar dispuesto en suficiente proximidad a los electrodos de operación de gotita 112 para permitir algún grado de inmovilización de los perlas magnéticamente sensibles 116.

Las Figuras 1A y 1B muestran una operación de partición que tiene lugar en presencia de una campo magnético producido dentro del actuador de gotitas 100 por un imán 118. La colocación del imán 118 no es adecuada para situar todas las perlas magnéticamente sensibles 116 en una situación centralizada (es decir, alejada de los bordes de la gotita) dentro de la parte de gotita 114 que está seleccionada para retener las perlas después de la operación de partición. En consecuencia, una cierta cantidad de perlas de magnéticamente sensibles 116 puentea la zona de partición 120 durante la operación de partición, como se muestra en la Figura 1A, y se produce una pérdida de perlas como se muestra en la Figura 1B. La Figura 1B muestra un primer gotita 122 que contiene una cierta cantidad de la cantidad original de perlas magnéticamente sensibles 116 y un segundo gotita 124 que contiene una cierta cantidad restante de la cantidad original de perlas magnéticamente sensibles 116. En otras palabras, el resultado final de la operación de partición ilustrada es una pérdida de perlas magnéticamente sensibles 116. Los inventores han descubierto que un factor que contribuye a la pérdida de de perlas es que una cantidad total de perlas magnéticamente sensibles 116 no es adecuadamente atraída, inmovilizada y retenida en la posición centrada dentro de la gotita 114 y/o a una distancia suficiente de la zona de partición 120.

8.2 Configuraciones Magnéticas para Evitar/Reducir la Pérdida de Perlas

La invención proporciona métodos mejorados que utilizan actuadores de gotitas que tiene varias configuraciones magnéticas en las que los imanes están dispuestos para partir de forma eficiente gotitas que contienen perlas y lavar las perlas magnéticamente sensibles, descritas con referencia a las Figuras 3, 4, 5A y 5B. Estas Figuras ilustran ejemplos no limitativos de configuraciones de imanes en combinación con un actuador de gotitas que parte gotitas con poca o nula pérdida de perla, y son, entre otras cosas, útiles para lavar de forma eficiente perlas magnéticamente sensibles. Uno o más imanes se pueden disponer en las proximidades de una gotita sobre un actuador de gotitas de manera que las perlas sensibles magnéticamente son atraídas e inmovilizadas adecuadamente dentro de la gotita, preferiblemente en una posición centrada alejada del cuello que se forma durante las operaciones de partición. En este enfoque, todas o sustancialmente todas las perlas magnéticamente sensibles son retenidas dentro de un único gotita después de finalizar la operación de partición de gotita. De manera similar, la operación de partición se puede realizar en una bala de gotita que está a una distancia de las perlas inmovilizadas que es suficiente para reducir o eliminar la pérdida de perla. Como se explicará con respecto a los ejemplos siguientes, se pueden disponer uno o más imanes con respecto a la estructura de actuador de gotitas, anterior y gotitas que contiene perlas magnéticamente sensibles inferiores y/o laterales y cualquier combinación de los mismos para conseguir este fin.

8.2.1 Posición del Imán con relación a la Zona de Partición

Las Figuras 2A y 2B ilustran vistas lateral y superior de un actuador de gotitas 200. En este ejemplo, el imán está situado en una posición que es suficientemente distante de la parte de la gotita que se está rompiendo durante la operación de partición, zona de partición 224 (o viceversa, se puede decir que la zona de partición está situada a suficiente distancia de la posición del imán) para reducir o eliminar la pérdida de perlas durante la operación de partición de gotita. Además, el imán está situado de manera que las perlas están generalmente situadas de forma centrada a lo largo de un diámetro lateral L de la gotita (vista superior). El actuador de gotitas 200 incluye un primer sustrato 210 y un segundo sustrato 212 separado para proporcionar una separación para realizar las operaciones de gotitas aunque sólo se requiere un sustrato. Un conjunto de electrodos de operación de gotita 214 está asociado con uno o más sustratos y dispuesto para realizar una o más operaciones de gotitas. El actuador de gotitas 200 puede incluir un imán 216 que está dispuesto lo suficientemente próximo a la gotita 218/222 para inmovilizar sustancialmente las perlas magnéticamente sensibles 220 durante una operación de partición de gotita. Por ejemplo, el imán puede estar dispuesto como un componente del actuador de gotitas y/o lo suficientemente próximo al actuador de gotitas para inmovilizar las perlas magnéticamente sensibles de la gotita 218/222 en la separación. La

gotita 218/222 puede estar rodeada por un fluido relleno (no mostrado). La gotita 218/222 contiene una cantidad de perlas magnéticamente sensibles 220 inmovilizadas por el imán 216.

El imán 216 está situado con relación a uno o más electrodos de operación de gotita 214, con el fin de localizar las perlas 220 en una región de la parte de la gotita 218/222 que es para formar la gotita 218 sin permitir la pérdida sustancial de perlas 218 durante la operación de partición de gotita en la gotita 222.

Durante la operación, una operación de partición se consigue sin pérdida sustancial de perlas magnéticas 220 mediante: como se muestra en la Figura 201, proporcionando un actuador de gotitas 200 con electrodos activos (ON) para formar una gotita combinada 218/222 y el imán 216 está dispuesto en una posición que hace que sustancialmente todas las perlas magnéticamente sensibles 220 sea atraídas por el imán 216 en una zona de gotita 218/222 que evita la pérdida sustancial de perlas magnéticamente sensibles 220 en la gotita 222. El imán 216 puede estar dispuesto de manera que la perlas magnéticamente sensibles 220 atraída hacia el mismo están localizadas en una posición generalmente centrada a lo largo del diámetro lateral L dentro de la gotita combinada 218/222 y alejadas de la zona de partición de gotita 224. Durante una operación de partición de gotita como se muestra en 202, un electrodo intermedio es desactivado (OFF) para producir la partición en la zona de partición 224. Sustancialmente, todas las perlas magnéticamente sensibles 220 son retenidas en la gotita 218, y la gotita 222 es formada y está sustancialmente libre de perlas magnéticamente sensibles 220 como se muestra en 203.

Un proceso de lavado de perlas magnéticamente sensibles 220 puede, en un ejemplo, implica que se consigue la repetición de la fusión de gotita (con una gotita de lavado), la inmovilización de perla, la partición, y las operaciones de resuspensión de perla hasta niveles aceptables de lavado.

8.2.2 Disposición de Dos Imanes para Producir Columnas de Perla

La Figura 3 ilustra una vista lateral de un actuador de gotitas 300. El actuador de gotitas 300 está generalmente configurado como se ha descrito en la Figura 2, excepto en que incluye dos imanes, el imán 310a y el imán 310b, dispuestos debajo y encima de la gotita 218. Los imanes pueden ser integrales con el actuador de gotitas 300 y/o estar dispuestos muy próximos al lado exterior del primer sustrato 210 y el segundo sustrato 212. En general, los imanes 310a y 310b pueden estar dispuestos de manera que los polos opuestos se enfrentan entre sí. En un ejemplo, el polo norte o positivo del imán 310 se enfrenta al polo sur o negativo del imán 310b, como se muestra en la Figura 3.

Los imanes 310a y 310b pueden ser imanes separados o, alternativamente, los imanes 310a y 310b pueden ser polos opuestos de un único imán permanente o electroimán con forma de U, con forma de C o con forma de herradura. La disposición de los imanes 310a y 310b puede hacer que las perlas magnéticamente sensibles 220 sean inmovilizadas y retenidas en un grupo con forma de columna. Los imanes están preferiblemente dispuestos para situar las perlas dentro de la gotita 218 en una posición que está alejada de la zona de partición 224 en la parte de la gotita combinada (no mostrada) en la que las perlas van a ser retenidas. Además, los imanes están preferiblemente alineados para situar centralmente las perlas a lo largo del diámetro lateral L dentro de la gotita combinada (no mostrada).

8.2.3 Pares de Imanes Múltiples para Centralizar las Perlas

Las Figuras 4A y 4B ilustran vistas laterales de un actuador de gotitas 400. El actuador de gotitas 400 está generalmente configurado como el actuador de gotitas 200 descrito en la Figura 2, excepto porque incluye cuatro imanes dispuestos en posiciones que rodean la gotita. En general, la disposición ilustra la realización en la que están dispuestos pares de imanes múltiples con polos negativos/positivos enfrentados entre sí para situar generalmente de forma central las perlas 220 en la gotita combinada antes de la partición. Como se ilustra en la Figura 4B, las perlas están situadas generalmente de forma centrada a lo largo de una dimensión vertical V y una dimensión lateral L. En el ejemplo ilustrado, el actuador de gotitas 400 incluye cuatro imanes, tales como el imán 410a, 410b, 410c y 410d.

Los imanes 410a y 410b están dispuestos muy próximos a la gotita, igualmente separados en los lados de la gotita, con los polos enfrentados entre sí. Por ejemplo, el polo norte del imán 410a puede enfrentarse al polo sur del imán 410b. Los imanes 410c y 410d pueden estar dispuestos muy próximos a la gotita, igualmente separados de cada lado de la gotita, con los polos opuestos enfrentados entre sí. Por ejemplo, el polo norte del imán 410d puede enfrentarse con el polo sur del imán 410c. El par de imanes 410a/410b puede estar alineado en ángulo recto alrededor de la gotita con relación al par de imanes 410c/410d. En la realización ilustrada, el par de imanes 410a/410b tiene una orientación vertical alrededor de la gotita, y el par de imanes 410c/410d tiene una orientación horizontal alrededor de la gotita. Cualquier orientación alrededor de la gotita que consigue la posición generalmente horizontal de las perlas a lo largo de la dimensión lateral L y la dimensión vertical V será suficiente para conseguir la inmovilización central deseada.

Los imanes 410a y 410b pueden estar dispuestos muy próximos al lado exterior del primer sustrato 210 y el segundo sustrato 212, respectivamente, de manera que el campo magnético de los imanes 410a y 410b puede atravesar la separación entre el primer sustrato 210 y el segundo sustrato 212 del actuador de gotitas 400. Los imanes 410a y 410b están dispuestos de manera que los polos opuestos se enfrentan entre sí. En un ejemplo, el polo norte del

imán 410 está enfrentado al polo su del imán 410b, como se muestra en la Figura 4. De manera similar, los imanes 410c y 410d están dispuestos muy próximos al primer lado y el segundo lado, respectivamente, del actuador de gotitas 400, de manera que el campo magnético de los imanes 410c y 410d puede atravesar la separación del actuador de gotitas 400 y ser perpendicular al campo magnético de los imanes 410a y 410b. Los imanes 410c y 410d están dispuestos de manera que los polos opuestos están enfrentados entre sí. En un ejemplo, el polo norte del imán 410d está enfrentándose a polo sur del imán 410c, como se muestra en la Figura 4.

Los imanes 410a y 410b pueden ser imanes separados o, alternativamente, imanes 410a y 410b pueden ser polos opuestos de un único imán permanente o electroimán con forma de U, con forma de C o con forma de herradura. De manera similar, los imanes 410c y 410d puede ser imanes separados o, alternativamente, los imanes 410c y 410d pueden ser polos opuestos de un único imán permanente o electroimán con forma de U, con forma de C o con forma de herradura. Debido a que el campo magnético de los imanes 410a y 410b y los imanes 410c y 410d, respectivamente, intersectan en el centro de la trayectoria de fluido dentro de actuador de gotitas 400, las perlas magnéticamente sensibles 220 están magnéticamente inmovilizadas y retenidas en un grupo que está centralizado dentro de la gotita combinada y retenido en la gotita 218 que sigue a la operación de partición.

8.2.4 Ilustración de Partición sin Pérdida Sustancial de Perlas

Las Figuras 5A y 5B ilustran una primera y una segunda vistas, respectivamente, de un actuador de gotitas 500 durante la primera y la segunda fase, respectivamente, de una operación de partición de gotita. El actuador de gotitas 500 puede alternativamente estar configurado igual que cualquiera de los actuadores de gotitas a modo de ejemplo 200, 300 y 400. El actuador de gotitas 500 de las Figuras 5A y 5B hace uno de fuerzas de imán que están sustancialmente dispuestas para utilizar en una operación de partición diseñada para dar lugar a la completa retención de las perlas en un único gotita, tal como el proceso para lavar las perlas magnéticamente sensibles.

En particular, las Figuras 5A y 5B muestran una operación de partición que está teniendo lugar a una distancia suficiente de las perlas situadas 220 para permitir una operación de partición que da lugar a la retención sustancialmente completa de las perlas magnéticamente sensibles en la gotita 218 y una gotita que está sustancialmente libre de perlas magnéticamente sensibles. La posición de la cara magnética 510 está adecuadamente dispuesta para inmovilizar magnéticamente sustancialmente todas las perlas magnéticamente sensibles 220 en una posición centrada dentro de la gotita y a una distancia de la zona de partición que es suficiente para conseguir la retención deseada de las perlas magnéticamente sensibles 220 en la gotita 218. Como resultado, sustancialmente ninguna cantidad de perlas magnéticamente sensibles 220 puentea una zona de partición 512 durante la operación de partición de gotita, como se muestra en las Figura 5A, y sustancialmente no se produce ninguna pérdida de perlas 220. En otras palabras, el resultado final de una operación de partición que tiene lugar sustancialmente fuera de las fuerzas magnéticas es que no hay sustancialmente pérdida de perlas magnéticamente sensibles 220 debido a que sustancialmente todas las perlas magnéticamente sensibles 220 son adecuadamente atraídas, inmovilizadas y retenidas en una posición centrada dentro del fluido.

8.3 Configuraciones de Actuador de gotitas con Imanes

8.3.1 Actuador de gotitas con Campo Magnético

La Figura 6 ilustra una vista lateral de un actuador de gotitas 600 que incluye un campo magnético para reducir el paso de campos magnéticos. El actuador de gotitas 600 incluye una placa superior 610 y una placa inferior 614 que están dispuestas teniendo una separación 618 entre las mismas. Una disposición de electrodos 622, por ejemplo, electrodos de electromojado, pueden estar asociados con la placa inferior 614 para realizar las operaciones de gotitas y un electrodo, tal como el electrodo de depósito 626 que está asociado con un depósito de fluido 630 que contiene una cantidad de fluido 634. Uno o más gotitas (no mostradas) pueden ser dispensadas a partir de una cantidad de fluido 634 del depósito 630 para la manipulación a lo largo de los electrodos 622. Adicionalmente el fluido 634 y cualquier gotita dispensada a partir del mismo pueden opcionalmente contener perlas (no mostradas) que pueden, en algunos casos, ser magnéticamente sensibles.

El actuador de gotitas 600 incluye además un imán 638 que está dispuesto en las proximidades de uno o más electrodos 622. El imán 638 puede estar dispuesto lo suficientemente próximo a los electrodos 622 para permitir la inmovilización de las perlas magnéticamente sensibles (no mostradas) por ejemplo en una gotita situada en un electrodo. En un ejemplo, la finalidad del imán 638 es inmovilizar magnéticamente y retener magnéticamente las perlas magnéticamente sensibles durante una operación de partición, por ejemplo una operación de partición que se puede realizar en un proceso para lavar las perlas magnéticamente sensibles.

Adicionalmente, el actuador de gotitas 600 incluye un campo magnético 642 que está dispuesto lo suficientemente próximo al depósito de fluido 630 para proteger el contenido del mismo de los campos magnéticos próximos, tales como el campo magnético del imán 638. El campo magnético 642 puede, por ejemplo, está formado de Mu-metal que tenga permeabilidad magnética suficiente alta y que sea adecuado para reducir, preferiblemente eliminar sustancialmente, los campos magnéticos no deseados procedentes del imán dentro del depósito de fluido 630. En un ejemplo, el escudo magnético 642 puede estar formado de Mu-metal que es suministrado por McMaster-Carr (Elmhurst, IL). Otros ejemplos de materiales de escudo magnético 642 incluyen Permalloy, hierro, acero y níquel.

El actuador de gotitas 600 no se limita a un escudo magnético y a un sólo imán, se puede instalar en el mismo cualquier número de escudo magnéticos de imanes. Por lo tanto, mediante el uso de uno o más escudo magnéticos, la exposición de las perlas magnéticas (no mostradas) dentro de los gotitas a los campos magnéticos se puede limitar a regiones deseadas sólo del actuador de gotitas 600. Los campos magnéticos pueden estar incluso sobre cualquier cara del actuador de gotitas y en cualquier disposición que facilite la protección adecuada.

En una aplicación a modo de ejemplo, el actuador de gotitas se puede emplear para realizar ensayos múltiples en paralelo y, en consecuencia, existe una necesidad de lavado generalmente simultáneo de las distintas perlas magnéticas que se pueden manipular dentro de múltiples caminos de electrodos. Sin campos magnéticos, la operación o ensayo de lavado que se realiza en una cierta posición utilizando un imán asociado puede estar afectada por el campo magnético de un imán distante (es decir, paso de los campos magnéticos). Por el contrario, el paso de los campos magnéticos entre dos imanes cualquiera se puede reducir, preferiblemente eliminar de forma sustancial, mediante la colocación estratégica de un o más escudos magnéticos, tal como el escudo magnético 642 dentro del actuador de gotitas.

8.3.2 Actuador de gotitas con Configuración de Imanes Alternantes

La Figura 7 ilustra una vista superior de un actuador de gotitas 700 que incluye un imán cuyos polos están dispuestos opuestamente para reducir el paso de los campos magnéticos. El actuador de gotitas 700 incluye una disposición de electrodos 710, por ejemplo electrodos de electromojado, para realizar operaciones de gotitas en uno o más gotitas (no mostrados). Adicionalmente, un imán 714 está dispuesto muy próximo a un primer camino de electrodos 710, un imán 718 está dispuesto muy próximo a un segundo camino de electrodos 710, un imán 722 está dispuesto muy próximo a un tercer camino de electrodo 710, y un imán 726 está dispuesto muy próximo a un cuarto camino de electrodos 710. Los imanes 714, 718, 722 y 726 pueden estar dispuestos lo suficientemente próximos a los electrodos 710 con el fin de permitir la inmovilización de perlas magnéticamente sensibles (no mostradas) dentro de uno o más gotitas (no mostrados) situados en uno o más electrodos.

Para reducir, preferiblemente eliminar sustancialmente, el paso de los campos magnéticos entre imanes adyacentes, los polos de los imanes adyacentes están dispuestos de forma opuesta, lo que hace que los campos magnéticos adyacentes se anulen. Por ejemplo, y haciendo referencia de nuevo a la Figura 7, el polo norte del imán 722 está orientado hacia arriba, y el polo sur del imán 726 está orientado hacia arriba. De esta manera, los campos magnéticos se anulan y el paso de los campos magnéticos entre los imanes 714, 718, 722 y 726 se puede reducir, preferiblemente eliminar sustancialmente.

La Figura 8 ilustra un mapa 800 de campos magnéticos dispuesto en una relación tal como la mostrada en la Figura 7.

8.4 Otras Técnicas

La invención también proporciona técnicas para reducir el remanente en un actuador de gotitas, así como técnicas para mejorar las operaciones de detección.

8.4.1 Técnica para Reducir el Remanente en un Actuador de gotitas

La Figura 9 ilustra una vista superior de un actuador de gotitas 900 mediante el cual se puede realizar una operación para reducir el remanente en una región de detección de gotita. El actuador de gotitas 900 incluye una disposición de electrodos 910, por ejemplo, electrodo de electromojado, para someter gotitas a operaciones de gotitas. Adicionalmente, el actuador de gotitas 900 incluye una región de detección designada 914 en por ejemplo, un cierto electrodo 910. La región de detección 914 se utiliza para detectar los gotitas situados en la misma o que pasan a través de la misma durante las operaciones de gotitas. En un ejemplo, la detección de gotita se realiza utilizando un tubo fotomultiplicador (PMT) o contador de fotones PMT que está asociado con la región de detección 914. Un PMT (no mostrado) se utiliza para medir la luz (es decir detectar fotones) emitida desde una gotita (por ejemplo debida a la fluorescencia y/o quimiluminiscencia) cuando en el electrodo que está asociado que está asociado con la región 914.

En algunos casos, una acumulación de sustancias en la región de detección, tal como la región de detección 914, puede ocurrir debido al remanente, lo que implica que las perlas u otras sustancias se depositen detrás sobre las superficies y/o en el fluido relleno durante las operaciones de gotitas. El remanente puede interferir con la detección adecuada de las señales procedentes de las subsiguientes gotitas y/o interferir con las operaciones de gotitas por los electrodos afectados.

Haciendo de nuevo referencia a la Figura 9, una operación de secuencialización de gotita de la invención, reduce, preferiblemente elimina sustancialmente, el remanente en la región de detección 914 proporcionando una serie de gotitas de ensayo alterantes 918 y gotitas de lavado 922. En un ejemplo, una gotita de ensayo 918a atraviesa la región de detección 914, seguida por una gotita de lavado 922a, seguida por una gotita de ensayo 918b, seguida por una gotita de lavado 922b, seguida por una gotita de ensayo 918c, seguida por una gotita de lavado 922c, seguida por una gotita de ensayo 918d, que es seguida por una gotita de lavado 922d. Dado que los gotitas de ensayo 918a,

918b, 918c y 918d tienen el potencial para degradar la función de la región de detección 914 debido al paso, los gotitas de lavado 922a, 922b, 922c y 922d realizan una operación de limpieza de las superficies que están asociadas con la región de detección 914. El proceso de limpieza de la invención no se limita a la secuencia que se muestra en la Figura 9. Es posible cualquier secuencia siempre y cuando la secuencia incluya un número adecuado de gotitas de lavado con el fin de limpiar adecuadamente la región de detección. Por ejemplo, dependiendo de los requisitos del ensayo específico, se pueden proporcionar múltiples gotitas de lavado entre los gotitas de ensayo y/o múltiples gotitas de ensayo se pueden disponer entre los gotitas de lavado, por ejemplo AAWAAWAAW, AAAWAAWAAW, AWWAWWWWW, AWWWWAWWWWWWW, AAWWAAWAAW, AAWWWWAAWAAAAWWWW, etc., en donde A = gotita de ensayo y W = gotita de lavado. Se ha de observar que no es necesario que los gotitas de ensayo y lavado sean del mismo tamaño. Los gotitas de ensayo puede ser más grandes o los gotitas de lavado pueden ser más grandes. La gotita más grande puede ser sometida a operaciones de gotitas como una bala (por ejemplo una bala que ocupe 4 electrodos) o como una única gotita grande (por ejemplo una gotita 4X que ocupe tantos electrodos como cubra naturalmente sin estar formado dentro de una bala). Cada disposición puede dar lugar a un resultado de limpieza diferente. También es necesario que los gotitas de ensayo y os gotitas de lavado sigas la misma trayectoria. Por ejemplo, sus trayectorias pueden intersectar en la región que necesite ser limpiada.

Las Figuras 10A y 10B ilustran una vista superior de un actuador de gotitas 1000 mediante el cual se puede realizar otra operación para reducir el remanente. El actuador de gotitas 1000 incluye una disposición de electrodos 1010, por ejemplo electrodos de electromojado, para realizar operaciones de gotitas en uno o más gotitas, tales como los gotitas de ensayo 1014 y 1018 (Figura 10A) ele gotita de lavado 1022 (Figura 10B). Adicionalmente, el imán 1026 está dispuesto muy próximo a un cierto electrodo 1010. El imán 1026 puede estar dispuesto lo suficientemente próximo a un cierto electrodo 1010 con el fin de permitir la inmovilización de las perlas magnéticamente sensibles dentro de uno o más gotitas, tales como las perlas magnéticas 1030 dentro de la gotita de ensayo 1014.

Durante, por ejemplo, una operación de partición de gotita, una cantidad de gotitas "satélite" se puede dejar detrás del punto en el que se produce la partición. Por ejemplo, y con referencia a las Figura 10A, una operación de partición de gotita mediante la cual se forma una gotita de ensayo 1014 mediante la partición a partir de una gotita de ensayo 1018 puede dar lugar a que una cierta cantidad de gotitas satélite 1034 se deje detrás sobre un cierto electrodo 1010. Las gotitas satélite, tales como las gotitas satélite 1034, pueden ser fuente de remanente (contaminación cruzada) desde una gotita a otra, lo cual no es deseable. La Figura 10B ilustra que una gotita de lavado, tal como la gotita 1022, puede ser transportada a lo largo de los electrodos 1010 después de las operaciones de ensayo de, por ejemplo, los gotitas de ensayo 1018 y 1014 con el fin de capturar los gotitas satélite 1034 y transportarlas alejándolas antes de que se produzca la siguiente operación de ensayo. De esta manera, los electrodos 1010 son limpiados entre las operaciones de ensayo. El proceso de limpieza de la invención no se limita a la secuencia que se muestra en las Figuras 10A y 10B. Cualquier secuencia es posible siempre que la secuencia incluya un número adecuado de gotitas de ensayo con el fin de limpiar adecuadamente los electrodos.

8.4.2 Mejorando las Operaciones de Detección en un Actuador de Gotitas

Las Figuras 11A, 11B y 11C ilustran vistas laterales de un actuador de gotitas 1100 mediante el cual se pueden realizar operaciones respectivas para mejorar la sensibilidad de la detección de gotita. El actuador de gotitas 1100 incluye una placa superior 1110 y una placa inferior 1114 que están dispuestas teniendo una separación 1118 entre las mismas. Una disposición de electrodos 1122, por ejemplo electrodos de electromojado, puede estar asociada con la placa inferior 1114 para realizar operaciones de gotitas en una gotita 1126. Una ventana de PMT 1130 puede estar asociada con la placa superior 1110, mediante la cual un PMT (no mostrado) se utiliza para medir la luz (es decir detectar los fotones 1134) emitida por la gotita 1126.

La Figura 11A muestra un método para mejorar la sensibilidad de la detección de gotita desplegando una gotita, tal como la gotita 1126, con el fin de incrementar el área de superficie que está expuesta a la ventana PMT 1130 y, de este modo, aumentar el número de fotones 1134 que se puede detectar. Una gotita puede estar linealmente extendida a través de uno o más electrodos 1122 dependiendo del volumen de la gotita. En el caso de una gotita de pequeño volumen, se puede añadir una gotita de regulación para hacer la gotita más grande, siempre y cuando las pérdidas debidas a la dilución de la gotita de regulación sean compensadas por el área de gotita incrementada expuesta al PMT. Por ejemplo, la Figura 11B muestra la gotita 1126 que está extendido continuamente a través de múltiples electrodos 1122, lo cual incrementa el número de fotones 1134 que puede alcanzar la ventana de PMT 1130 y pueden ser detectados por el PMT.

La Figura 11C muestra un escenario en el que la gotita 1126 es dividida en múltiples gotitas 1126, tales como las gotitas 1126a, 1126b, 1126c y 1126d que están en múltiples electrodos 1122. De nuevo, el área de superficie que está expuesta a la ventana de PMT 1130 es incrementada, lo que incrementa el número de fotones 1134 que pueden alcanzar la ventana 1130 y que pueden ser detectados por el PMT. Alternativamente, y haciendo de nuevo referencia a las Figuras 11A, 11B, 11C, la extensión de una gotita, tal como la gotita 1126, no se limita a una extensión sólo lineal. La gotita se puede extender en dos dimensiones, tal como a través de una malla o disposición de electrodos 1122, para incrementar el área de superficie que está expuesta a la ventana de PTM 1130. Alternativamente, uno o más electrodos de área grande pueden estar dispuestos, a través de los cuales se pueden

extender una o más gotitas.

La Figura 12 ilustra una vista superior de un actuador de gotitas 1200 para mejorar la sensibilidad de la detección de gotita. El actuador de gotitas 1200 incluye una disposición de electrodos 1210, por ejemplo, electrodos de electromojado, para realizar operaciones de gotitas sobre múltiples gotitas 1214.

5 Adicionalmente, el actuador de gotitas 1200 puede incluir una región de detección de gotita 1218 que tiene asociado PMT (no mostrado) para medir la luz que es emitida desde un cierto gotita 1214 cuando está presente. Para reducir, preferiblemente eliminar, el remanente de luz procedente de una gotita distante 1214 a la región de detección de gotita 1218, se mantiene una distancia mínima d en todas las direcciones entre el perímetro exterior de la región de detección de gotita 1218 y cualquier gotita distante 1214 dentro de actuador de gotitas 1200, como se muestra en la
10 Figura 12. La distancia mínima d es suficientemente grande para reducir, preferiblemente eliminar sustancialmente, el remanente de luz desde una gotita distante 1214 a una región de detección de gotitas 1218. Como resultado, en un actuador de gotitas que incluye múltiples gotitas 1214, se mantiene una separación durante la detección entre la gotita objetivo 1214 que está siendo medido y la gotita distante 1214, de manera que el remanente de luz desde la gotita distante 1214 a la región de detección de gotita 1218 se reduce, preferiblemente se elimina sustancialmente.
15 Como un caso específico, la distancia d es un múltiplo entero de m de un tamaño de electrodo unidad, y la detección de gotita se puede realizar en un conjunto de electrodos que están eléctricamente conectados como un bus con fase m . Alternativamente, la Figura 13 (descrita más adelante) describe un escenario en el que el estado real con el actuador de gotitas se limita y, por lo tanto no se puede conseguir espacio suficiente entre los gotitas, como se ha descrito en la Figura 12.

20 En una realización alternativa, el paso procedente de los gotitas cercanos se elimina utilizando elementos ópticos, tales como una o más lentes, que enfocan sólo luz procedente de la gotita que está siendo interrogada sobre el sensor y elimina la señal procedente de otras gotitas.

La Figura 13 ilustra una vista lateral de un actuador de gotitas 1300 para mejorar la sensibilidad de la detección de gotita. El actuador de gotitas 1300 incluye una placa superior 1310 y una placa inferior 1314 que están dispuestas
25 teniendo una separación 1318 entre las mismas. Una disposición de electrodos 1322, por ejemplo, electrodos de electromojado, puede estar asociada con la placa inferior 1314 para realizar operaciones de gotitas, tales como una gotita 1326 y una gotita 1330. Una ventana de PMT 1334 puede estar asociada con la placa superior 1310, mediante la cual un PMT (no mostrado) se utiliza para medir la luz (es decir, detectar fotones 1338) que es emitida desde, por ejemplo, la gotita 1326. Debido a que la separación entre, por ejemplo, la gotita 1326 en la ventana de PMT 1334 y
30 la gotita distante 1339 no es suficientemente adecuada para evitar el remanente de luz desde la gotita 1330 a la ventana de PMT 1334, se proporciona una máscara 1342 sobre la placa superior 1310. La finalidad de la máscara 1342 es bloquear la luz desde la gotita distante desde el remanente a la ventana de OMT 1334, que es región de detección de una gotita objetivo.

La máscara 1342 puede estar formada sobre la placa superior 1310 a través de una capa de cualquier material
35 absorbente de luz, siempre y cuando el material que se utilice sea compatible con el proceso de electromojado y no interfiera demasiado con las operaciones de actuador de gotitas. En un ejemplo, las máscara 1342 se puede formar aplicando una capa de pintura negra a la placa superior 1310, de manera que una o dos ventanas, tales como la ventana de PMT 1334, están dispuestas en las regiones de detección seleccionadas del actuador de gotitas 1300. En el ejemplo mostrado en la Figura 13, la máscara 1342 reduce, preferiblemente elimina sustancialmente, el
40 remanente de luz desde la gotita distante 1330 a la gotita objetivo 1326 en la ventana de PMT 1334. En otro ejemplo, la máscara 1342 es formada mediante un conductor opaco sobre el lado de la placa superior 1310 que se enfrenta a la gotita. El conductor puede, por ejemplo, ser de aluminio cromo, cobre o platino. El conductor puede adicionalmente servir como un electrodo de referencia eléctrico.

8.5 Actuadores de gotitas con Conjuntos Magnéticos

45 Las Figuras 14A y 14B ilustran vistas superiores de un conjunto de actuador de gotitas modular 1400, que es un ejemplo no limitativo de un conjunto universal para orientar un conjunto de imanes en un actuador de gotitas. El conjunto de actuador de gotitas modular 1400 puede incluir, por ejemplo, un soporte 1410, un conjunto de imanes 1420, y un actuador de gotitas 1430. La Figura 14A muestra el conjunto de actuador de gotitas modular 1400 cuando está desmontado. La Figura 14B muestra en conjunto de actuador de gotitas modular 1400 cuando está montado.

50 El conjunto de imán 1420 puede incluir un sustrato 1424 sobre el cual se monta un o más imanes 1428, como se muestra en la Figura 14A. Los imanes 1428 pueden estar fijados permanentemente al sustrato 1424 o se puede retirar. Los imanes retirables 1428 facilitan la selección por el usuario de los imanes que tengan las propiedades deseadas, tal como la intensidad de imán deseada. En una realización, el instrumento de actuador de gotitas está provisto de un conjunto de actuador de gotitas 1400 que incluye un soporte 1410 y un conjunto de imanes 1420 sin
55 imanes. En otra realización, el usuario está también provisto de imanes que tienen propiedades específicas que se pueden unir por el usuario al conjunto de imanes 1420. En otra realización, el usuario está también provisto de conjuntos de imanes que tienen varias características específicas de manera que el usuario puede seleccionar un conjunto de uno o más imanes que tienen las propiedades deseadas y fijar el conjunto seleccionado al conjunto de imanes 1420.

Los imanes pueden estar marcados o tener un código (por ejemplo un código de colores) para facilitar la selección de los imanes que tengas las propiedades adecuadas, así como estar marcados para mostrar la orientación del campo magnético de los imanes (por ejemplo un código de colores u otra marca para indicar las caras Norte y Sur de los imanes). De manera similar, el conjunto de imanes 1420 puede estar marcado para mostrar la orientación deseada de los imanes insertados en el mismo, y en algunas realizaciones, los imanes pueden estar conformados para permitir que se fijen al conjunto de imanes 1420 sólo en una orientación apropiada.

Además, en otra realización, el usuario puede disponer de conjuntos de imanes 1420 que tienen imanes ya fijados a los mismos, en donde los conjuntos de imanes 1420 cada uno tiene diferentes configuraciones magnéticas, por ejemplo, conjuntos de imanes que tienen propiedades diferentes. El usuario puede seleccionar la configuración de imanes que tenga imanes con propiedades adecuadas para el uso deseado del usuario para el instrumento. El conjunto de imanes 1420 puede estar marcado o codificado de otra forma con colores para facilitar la selección por parte del usuario. Las propiedades de los imanes pueden, por ejemplo, ser seleccionadas en base a las propiedades de las perlas seleccionadas por el usuario.

El actuador de gotitas 1430 puede incluir un sustrato 1434 sobre el cual hay una disposición de electrodos 1438, por ejemplo electrodos de electromojado, como se muestra en la Figura 14A. También puede estar incluido un segundo sustrato (superior) (no mostrado).

El conjunto de imanes 1420 está diseñado de tal manera que los imanes 1428 se alinean sustancialmente con ciertos electrodos 1438 de interés en el actuador de gotitas 1430. Por ejemplo, en algunas realizaciones, pueden estar presentes configuraciones paralelas de imanes para llevar a cabo las etapas de ensayo paralelas sobre el actuador de gotitas 1430. Los imanes pueden estar configurados y orientados, por ejemplo, de acuerdo con las diversas configuraciones y orientaciones descritas aquí.

El soporte 1410 puede servir como plataforma universal para montar un conjunto de imanes, tal como el conjunto de imanes 1420, y un actuador de gotitas, tal como el actuador de gotitas 1430. En una realización, el soporte 1410 está configurado para aceptar una amplia variedad de conjuntos de imanes 1420 y una amplia variedad de actuadores de gotitas 1430. El conjunto de imanes 1420 puede incluir uno o más imanes dispuestos en cualquiera de una variedad de diseños y empleando cualquiera de una variedad de propiedades de imán. La Figura 14 ilustra una fila de imanes, pero los imanes pueden también estar dispuestos en una malla o cualquier disposición que coloque los imanes en su posición apropiada con relación al actuador de gotitas 1430 con el fin de facilitar las operaciones deseadas en el actuador de gotitas.

En un ejemplo, el conjunto de imanes 1420 y el actuador de gotitas 1430 pueden estar instalados en el soporte 1410 mediante fijaciones respectivas 1418 y 1414. Las fijaciones pueden, por ejemplo implicar ranuras dentro de las cuales el soporte 1410 se puede fijar, aberturas en el soporte 1410 para aceptar postes sobre los conjuntos de imanes 1420 o viceversa, aberturas en el soporte 1410 para aceptar tornillos sobre los conjuntos de imanes 1420, postes roscados para aceptar pernos, diversos mecanismo cargados por muelle, bandejas rebajadas, fijaciones complementarias, o similares. Cualquier mecanismo que facilite la unión suficientemente segura para permitir que el dispositivo funciones para su fin destinado será suficiente.

Además, el soporte 1410 puede incluir múltiples fijaciones para múltiples posiciones posibles del conjunto de imanes 1420 y/o el actuador de gotitas 1430, y/o el montaje de múltiples conjuntos de imanes 1420 y/o múltiples actuadores de gotitas 1430 en un único soporte 1410. Además, el soporte 1410 puede estar configurado para permitir que los conjuntos de imanes 1420 estén montados encima, debajo y/o al lado del actuador de gotitas 1430, es decir, en cualquier relación con el actuador de gotitas. Con el actuador de gotitas 1430 instalado en el soporte modular 1410, se puede insertar cualquier conjunto de imanes de interés, tal como el conjunto de imanes 1420, en el conjunto de actuador de gotitas 1400 a través, por ejemplo, de la ranura.

La Figura 15 ilustra una vista lateral de un conjunto de actuador de gotitas modular 1500, que es otro ejemplo no limitativo de un conjunto universal para orientar un conjunto de imanes en un actuador de gotitas, similar al conjunto 1400 mostrado en la Figura 14, excepto en que el soporte 1410 está sustituido por el soporte 1510. El soporte 1510 incluye bandejas rebajadas sobre las cuales se pueden fijar el conjunto de imanes 1420 y el actuador de gotitas 1430 con el fin de proporcionar un método de carga de "colocación desde arriba".

Haciendo referencia a las Figuras 14A, 14B y 15, un aspecto de la invención es que las ranuras u otros medios de unión sirven para orientar el sustrato de imán y el actuador de gotitas de manera que se alinea los imanes en el conjunto de imanes con los electrodos apropiados o trayectorias de electrodos sobre el actuador de gotitas. De esta manera, los imanes se pueden retirar cuando no se necesiten para el ensayo. Adicionalmente, se pueden disponer diferentes soportes de imanes con diferentes distribuciones de imanes para diferentes tipos de ensayo o diferentes configuraciones de actuador de gotitas.

8.6 Imanes

Además de otros aspectos ya descritos, se ha de observar que los imanes seleccionados para utilizar con la invención pueden ser permanentes o electroimanes. Puede haber una relación entre el contenido magnéticamente

sensible de las perlas en la gotita y la intensidad/fuerza magnética. Por lo tanto, la intensidad/fuerza del imán puede ser seleccionada con relación a la capacidad de respuesta de las perlas magnéticas de manera que sea:

- los suficientemente fuerte con relación a la capacidad de respuesta de las perlas para inmovilizar sustancialmente las perlas magnéticamente sensibles;

5 - no tan fuerte con relación a la capacidad de respuesta de las perlas que significativamente magnetiza la perlas y, de este modo, produce la formación irreversible de grupos de perlas;

- no tan fuerte con relación a las capacidad de respuesta magnética de las perlas que produzca la resuspensión pobremente cuando el campo magnético es retirado; y/o

10 - no tan fuerte con relación a la capacidad de respuesta magnética de las perlas que las perlas sean repelidas de la gotita totalmente.

En algunas realizaciones, el imán puede tener elevada intensidad magnética (en Tesla) con menor fuerza (en libras). En un ejemplo, el imán es un imán permanente de neodimio que tiene una intensidad de campo de superficie de aproximadamente 1 Tesla (T). En otro ejemplo, el imán es un electroimán que tiene una intensidad de campo de superficie de aproximadamente 1 T, que puede ser activado o desactivado electrónicamente. Cuando se utiliza un imán permanente, el imán se puede mover alejándose del a gotita que contiene perlas magnéticamente sensibles para usos en los que es deseable retirar la influencia del campo magnético. Aunque no se limita a los siguientes rangos, se entiende que los rangos de la intensidad magnética que generalmente abarcan la intensidad útil de la presente invención pueden incluir: un amplio rango de 0,01 T a 100 T (a pulsos) o 45 T (continuo); un rango intermedio de 0,01 T a 10 T; y un rango estrecho de 0,1 T a 1 T (preferiblemente 0,5 T).

20 8.7 Composición de Gotita

Los gotitas que incluye perlas magnéticas y están sometidos a operaciones de partición de gotita puede incluir cualquiera de una amplia variedad de muestras, reactivos y reguladores útiles para llevar a cabo los ensayos utilizando las perlas. Por ejemplo, durante el lavado, la gotita puede incluir un regulador, tal como un regulador salino de fosfato (PBS) con un surfactante que sea adecuado para utilizar en inmunoensayo con base magnética. Los surfactantes preferidos son aquellos que facilitan la inmovilización y/o resuspensión de las perlas después de la inmovilización por las fuerzas magnéticas. El surfactante y la cantidad de surfactante se pueden ajustar para proporcionar una mejora sustancial en la resuspensión comparado con una solución de control que le falte surfactante. En una realización, la gotita incluye regulador PBS con aproximadamente 0,01% de Tween® 20.

30 Un polímero hidrofílico y/o un surfactante se pueden incluir en la gotita para facilitar la retención y la resuspensión de las perlas magnéticamente sensibles durante la operación de partición. La gotita puede incluir una amplia variedad de líquidos inmiscibles co el fluido relleno. Ejemplos de reguladores incluyen, pero no se limitan a, regulador salino con fosfato (PBS) y Solución salina de regulador Tris. En una realización, el fluido de gotita incluye un regulador, tal como el regulador PBS, y cualquier surfactante que sea adecuado para utilizar en inmunoensayos con base magnética.

35 Los polímeros hidrofílicos y surfactantes preferidos son aquellos que facilitan la resuspensión de las perlas después de la inmovilización por las fuerzas magnéticas. El surfactante y la cantidad de surfactante se pueden ajustar para proporcionar una mejora sustancial en la resuspensión en comparación con una solución de control que carece de surfactante. Ejemplos de surfactantes que son adecuados para utilizar en inmunoensayos con base magnética incluye, pero no se limita a, polisorbato 20, que es conocido comercialmente como Tween® 20, y Triton X-100. El Tween® 20 puede ser suministrado, por ejemplo por Pierce Biotechnology, Inc, (Woburn, MA). Triton® X-100 puede ser suministrado, por ejemplo, por Rohm & Haas Co (Philadelphia, PA). En un ejemplo, el fluido de gotita dentro de actuador de gotitas es una mezcla de PBS con Tween® 20 en un rango comprendido entre aproximadamente 0,001% y aproximadamente 0,1%. En otro ejemplo, el fluido de gotita dentro del actuador de gotitas es una mezcla de PBS con aproximadamente 0,01% de Tween® 20.

45 Otros ejemplos incluyen surfactantes plurónicos, polietileno glicol (PEG), metoxipolietileno glicol (MPEG), polisorbato (monooleato de sorbitán polioxietileno o Tween® 20) polioxietileno octil fenil éter (Triton X-100®), polivinilo pirrolidona, ácido poliacrílico (ácido poliacrílico reticulado, tal como carbómero) poliglucósidos (surfactantes glucosídicos no iónicos tales como octil glucopiranosido) y polisacáridos solubles (y derivados de los mismos) tales como heparin, dextranos, metil celulosa, propil metil celulosa (y otras ésteres y éteres de celulosa) dextrinas, maltodextrinas, galactomananos, arabigalactanos, beta glucanos, alginatos, agar, carragenano, y gomas de plantas tales como goma de xantana, psilio, goma de guar, goma de tragacanto, goma de karaya, goma de gatti y goma de acacia. El aditivo particular se puede seleccionar para la máxima compatibilidad con una muestra de microfluído específica.

55 8.8 Actuador de Gotitas

Como ejemplo de arquitecturas de actuador de gotitas que son adecuados para utilizar con la presente invención,

véase la Patente de Estados Unidos 6.911.132, titulada, "Apparatus for Manipulating Droplets by Electrowetting-Based Techniques" cedida el 28 de Junio de 2005 a Pamula et al.; la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 11/343.284, titulada, "Apparatuses and Methods for Manipulating Droplets on a Printed Circuit Board" presentada el 30 de enero de 2006; las patentes de Estados Unidos 6.773.566, titulada "Electrostatic actuators for Microfluidics and Methods for Using same" concedida el 10 de agosto de 2004 y 6.565.727, titulada "Actuators for Microfluidics Without Moving Parts" concedida el 24 de enero de 2000, ambas a Shenderov et al.; y la Solicitud de Patente Internacional N° PCT/US 06/47486 concedida a Polack et al., titulada "Droplet-Based Biochemistry", presentada el 11 de Diciembre de 2006. Las técnicas de actuador de gotitas para inmovilizar perlas magnéticas y/o perlas no magnéticas se describen en las solicitudes de patente internacionales anterior y en la solicitud de patente de Estados Unidos de Sista, et al., N° 60/900.653, presentada el 9 de Febrero de 2007, titulada "Inmobilization of magnetically-responsive beads during droplet operations"; la Solicitud de Patente de Estados Unidos de Sista et al. N° 60/969.736, presentada el 4 de septiembre de 2007, titulada "Gotita Actuador Assay Improvements"; y la Solicitud de Patente de Estados Unidos de Allen et al N° 60/957.717, presentada el 24 de agosto de 2007, titulada "Perla washing using physical barriers".

8.9 Fluidos

Como ejemplos de fluidos que se pueden someter a operaciones de gotitas de la invención, véanse las patentes enumeradas en la sección 8.8, especialmente la Solicitud de Patente internacional N° PCT/US 06/47486, titulada, "Droplet-Based Biochemistry" presentada el 11 de diciembre de 2006. En algunas realizaciones, la gotita es un fluido de muestra tal como una muestra biológica, tal como sangre completa, fluido linfático, suero, plasma, sudor, lágrimas, saliva, esputo, fluido cerebroespinal, fluido amniótico, fluido seminal, secreción vaginal, fluido de suero, fluido sinovial, fluido pericardial, fluido peritoneal, fluido pleural, transudaciones, exudaciones, fluido cístico, bilis, orina, fluido gástrico, fluido intestinal, muestras fecales, tejidos fluidificados, organismos fluidificados, frotis biológico y lavados biológicos. En algunas realizaciones, el fluido que es cargado incluye un reactivo, tal como agua, agua desionizada, soluciones salinas, soluciones ácidas, soluciones básicas, soluciones de detergente y/o reguladoras. En algunas realizaciones, el fluido que es cargado incluye un reactivo, tal como un reactivo para un protocolo bioquímico, tal como un protocolo de amplificación de ácido nucleico, un protocolo de ensayo basado en afinidad, un protocolo de secuenciación, y/o un protocolo para análisis de fluido biológicos.

8.10 Fluidos Rellenadores

Como se ha observado, la separación típicamente está relleno de un fluido relleno. El fluido relleno puede, por ejemplo, ser un aceite de baja viscosidad, tal como aceite de silicona. Otros ejemplos de fluido rellenos se proporcionan en la Solicitud de Patente Internacional N° PCT/US 06/47486, titulada "Droplet-Based Biochemistry" presentada el 11 de diciembre de 2006.

8.11 Lavado de Perlas Magnéticamente Sensibles

Para protocolos que hacen uso de perlas, las gotitas con perlas se pueden combinar utilizando operaciones de gotitas con una o más gotitas de lavado. Después, mientras se retiene las perlas (por ejemplo, física o magnéticamente) utilizando las configuraciones magnéticas de la invención, la gotita fusionada se puede dividir utilizando operaciones de gotitas en dos o más gotitas: uno o más gotitas con perlas y uno o más gotitas son una cantidad de sustancial de perlas. En una realización, la gotita fusionada es dividida utilizando operaciones de gotitas en una gotita con perlas y una gotita sin una cantidad sustancial de perlas.

Generalmente, cada ejecución de un protocolo de lavado da lugar a la retención de suficientes perlas para realizar el ensayo destinado sin demasiados efectos perjudiciales en los resultados del ensayo. En ciertas realizaciones, cada división de la gotita fusionada da lugar a la retención de más del 90, 95, 97, 99, 99.1, 99.2, 99.3, 99.4, 99.5, 99.6, 99.7, 99.8, 99.9, 99.999, 99.9999, 99.99999 ó 99.999999 por ciento de perlas. En otras realizaciones, cada ejecución de un protocolo de lavado para conseguir una reducción predeterminada en la concentración y/o cantidad de sustancia retirada da lugar a la retención de más del 99, 99.1, 99.2, 99.3, 99.4, 99.5, 99.6, 99.7, 99.8, 99.9, 99.999, 99.9999, 99.99999 ó 99.999999 por ciento de perlas. En todavía otras realizaciones, la cantidad de perlas retenidas se calcula y los resultados se ajustan en consecuencia.

En algunas realizaciones, las perlas se pueden lavar en depósitos en los que la gotita que contiene perlas y las gotitas de lavado están combinadas, las perlas son retenidas (por ejemplo mediante un imán, mediante estructuras físicas, fuerzas electrostáticas) y los gotitas que carecen de perlas son dispensados desde el depósito utilizando operaciones de perlas. Por ejemplo, las perlas se pueden lavar mediante una estrategia de diluir y dispensar mediante la cual el regulador se añade al depósito para diluir los contenidos, las perlas sensibles magnéticamente son situadas dentro del depósito con un imán y la mayoría de la solución es dispensada desde el depósito; y este ciclo se repite hasta que se consiguen niveles aceptables de lavado.

Como ejemplo, el lavado de las perlas magnéticamente sensibles puede incluir generalmente las siguientes etapas:

(1) proporcionar una gotita que comprende perlas magnéticamente sensibles y sustancias no unidas en las proximidades de un imán;

(2) utilizar operaciones de gotitas para combinar una gotita de lavado con la gotita que comprende las perlas magnéticamente sensibles;

(3) inmovilizar las perlas mediante la aplicación de un campo magnético,

5 (4) utilizar operaciones de gotitas para retirar algunos o todas las gotitas que rodean las perlas para situar una gotita que contiene las perlas con una concentración reducida de componentes no unidos y una gotita que comprende componentes no unidos;

(5) liberar las perlas retirando el campo magnético; y

(6) repetir las etapas (2) a (3) ó (2) a (4) hasta que se consiga un grado de purificación predeterminado.

10 De esta manera, las sustancias no unidas, tales como los contaminantes, subproductos o reactivos en exceso, se pueden separar de las perlas. Cada ciclo produce una gotita que incluye las perlas pero con un nivel disminuido de sustancia no deseadas. La etapa (5) no se requiere en cada ciclo de lavado; sin embargo, puede ser útil mejorar el lavado liberando contaminantes que se puedan quedar atrapados en las perlas inmovilizadas. Las etapas se pueden realizar en diferente orden, por ejemplo las etapas (2) y (3) se pueden invertir. Las etapas en el protocolo de lavado se pueden realizar en un actuador de gotitas utilizando operaciones de gotitas como se ha descrito aquí.

15 En las realizaciones en las que se utilizan perlas magnéticamente sensibles, los inventores han encontrado que la aplicación de un campo magnético aunque útil para la inmovilización temporal de las perlas, mover las perlas y/o colocar las perlas, a veces da lugar a una agregación no deseada de perlas. Como ya se ha observado, en una realización, se incluye un polímero y/o surfactante hidrofílico para evitar o reducir la agregación de perlas. Los polímeros hidrofílicos y los surfactantes debían ser seleccionados y utilizados en cantidades que reduzcan o
20 eliminen la agregación de perlas y minimicen la absorción no específica sin dar lugar, al mismo tiempo, a pérdida significativa de analitos objetivo o reactivos de la gotita. En una realización el polímero hidrofílico y/o el surfactante reducen el agrupamiento en la gotita en un fluido relleno no gaseoso y especialmente no sirven para reducir la absorción molecular de los componentes de gotita a una superficie del actuador de gotitas.

25 Otro enfoque para eliminar o reducir la agregación de breas implica el uso de número más pequeños de perlas más grandes. Se puede utilizar cualquier número de perlas que se pueden contener en una gotita durante una o más operaciones de gotitas. En algunas realizaciones, el número de perlas magnéticamente sensibles puede estar comprendido entre 1 y varios 100 miles. Por ejemplo, en una realización, la invención hace uso de una a 100 perlas magnéticamente sensibles por gotita. Por ejemplo, la invención puede hacer uso de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10...100
30 perlas magnéticamente sensibles por gotita. En una realización, el número de perlas magnéticamente sensibles está comprendido entre uno y 10. El uso de número más pequeños de perlas magnéticamente sensibles permite que se utilicen perlas más grandes. Por ejemplo, en una realización, la invención hace uso de una a 100 perlas magnéticamente sensibles por gotita, en donde las perlas tienen un diámetro medio de aproximadamente entre 25 y 100 micras. En otra realización, la invención hace uso de una a 10 perlas magnéticamente sensibles por gotita, en donde las perlas tienen un diámetro medio de aproximadamente 50 a aproximadamente 100 micras.

35 9 Comentarios Finales

La descripción detallada anterior de las realizaciones se refiere a los dibujos adjuntos, que ilustran realizaciones específicas de la invención. Otras realizaciones que tienen diferentes estructuras y funcionamientos no se salen del campo de la presente invención.

40 Esta memoria está dividida en secciones únicamente para la comodidad del lector. Los títulos no deben ser interpretados como limitantes del campo de la invención.

Se entenderá que se pueden modificar diversos detalles de la presente invención sin que se salgan del campo de la presente invención. Además, la descripción anterior solo tiene fines ilustrativos, y no la finalidad de limitar, ya que la presente invención está definida por las reivindicaciones siguientes.

45

REIVINDICACIONES

1. Un método para proporcionar una gotita (218) en contacto con una perlas magnéticamente sensible (220) y que tiene una cantidad reducida de una sustancia, comprendiendo el método las etapas de:

(a) proporcionar un actuador de gotitas (300) que comprende:

(i) un sustrato (210) que comprende electrodos (214) dispuestos para llevar a cabo las operaciones de gotitas sobre una superficie y

(ii) una gotita de iniciación (218/222) que comprende:

- (1) una o más perlas magnéticamente sensibles (220);
- (2) una cantidad inicial de la sustancia; y
- (3) un volumen inicial;

(b) inmovilizar magnéticamente la una o más perlas magnéticamente sensibles (220) en una posición que está a una distancia de una zona de partición de gotita objetivo (224), y

(c) realizar una o más operaciones de gotitas que comprenden operaciones de división seleccionadas para dividir la gotita inicial (218/222) para producir un conjunto de gotitas que comprende:

- (i) una gotita (218) que comprende sustancialmente todas de la una o más perlas magnéticamente sensibles (220) y que tiene una cantidad disminuida de la sustancia con relación a la concentración inicial; y
- (ii) una gotita (222) que carece sustancialmente de perlas magnéticamente sensibles;

caracterizado porque:

en la etapa (b), inmovilizar mecánicamente la una o más perlas magnéticamente sensibles (220) por medio de imanes (310a, 310b; 410a, 410b) dispuestos encima y debajo de la gotita inicial (218/222) con los polos opuestos enfrentados entre sí.

2. El método de la reivindicación 1, en el que la gotita inicial (218/222) comprende una concentración inicial de la sustancia, y una o más operaciones de gotitas producen una gotita que comprende una concentración reducida de cantidad reducida de la sustancia con relación a la concentración inicial y a la cantidad inicial.

3. El método de la reivindicación 1, que además comprende realizar una o más operaciones de gotitas para fusionar una gotita de lavado con la gotita provista en la etapa 1(a) para producir una gotita combinada.

4. El método de la reivindicación 1, que además comprende liberar o resuspender una o más de las perlas (220) siguiendo la etapa 1(c).

5. El método de la reivindicación 4, que además comprende proporcionar un surfactante en la gotita que mejora la resuspensión con relación a la correspondiente gotita que carece de polímero hidrofílico.

6. El método de la reivindicación 4, que además comprende agitar una o más de las perlas (220) siguiendo la etapa 1(c) usando un sonicador.

7. El método de la reivindicación 1, en el que:

(a) la etapa 1(b) comprende situar una gotita que comprende las perlas (220) próximas a dichos imanes (310a, 310b; 410a, 410b) efectuando un campo magnético en las proximidades de uno o más de los electrodos (214); y

(b) la intensidad y localización del campo magnético son seccionadas para inmovilizar las perlas magnéticamente sensibles (220) en la gotita a una distancia de una zona de partición objetivo (224) que es suficiente para retener sustancialmente todas las perlas magnéticas (220) en una gotita (218).

8. El método de la reivindicación 1, en el que:

(a) la etapa 1(b) comprende situar una gotita que comprende las perlas (220) próxima a dichos imanes (310a, 310b; 410a, 410b) efectuando un campo magnético en las proximidades de uno o más de los electrodos (214); y

(b) la posición de los imanes (310a, 310b; 410a, 410b) es seleccionada para situar centralmente las perlas magnéticas (220) a lo largo de una dimensión lateral de la gotita.

5 9. El método de la reivindicación 1, en el que:

(a) la etapa 1(b) comprende situar una gotita que comprende las perlas (220) próximas a dichos imanes (310a, 310b; 410a, 410b) próximos a uno o más de los electrodos (214); y

10 (b) la localización del campo de los imanes (310a, 310b; 410a, 410b) es seccionada para situar centradamente las perlas magnéticas (220) a lo largo de una dimensión vertical de la gotita.

10. El método de la reivindicación 1, en el que la etapa 1(b) comprende inmovilizar magnéticamente la una o más perlas magnéticamente sensibles utilizando unos medios que comprenden:

15 (a) dichos imanes (310a, 310b; 410a, 410b); y

(b) unos medios para mover los imanes (310a, 310b; 410a, 410b) dentro y fuera de la proximidad del uno o más de los electrodos (214).

20 11. El método de la reivindicación 1, en el que la etapa 1(c) se realiza mediante electrodos.

12. El método de la reivindicación 1, en el que la etapa 1(c) se realiza mediante electromojado.

13. El método de la reivindicación 1, en el que la etapa 1(c) se realiza mediante dielectroforesis.

25 14. El método de la reivindicación 1, en el que la etapa 1(c) es mediante campo eléctrico.

30 15. El método de la reivindicación 1, en el que imanes adicionales (410c, 410d) están dispuestos de manera que son acoplados múltiples pares de imanes en posiciones que rodean la gotita inicial (218/222) con los polos opuestos enfrentados entre sí.

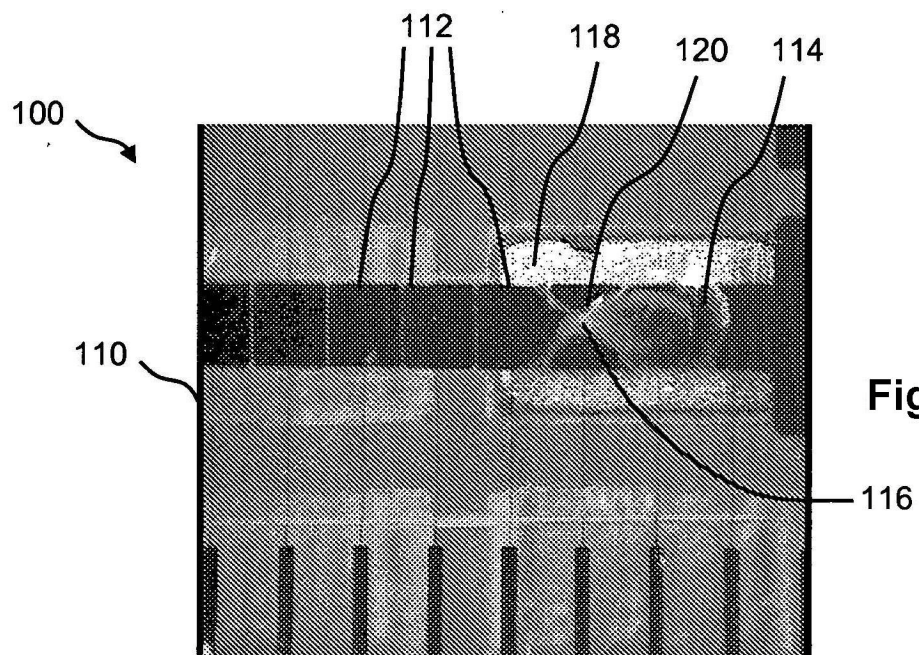


Figura 1A

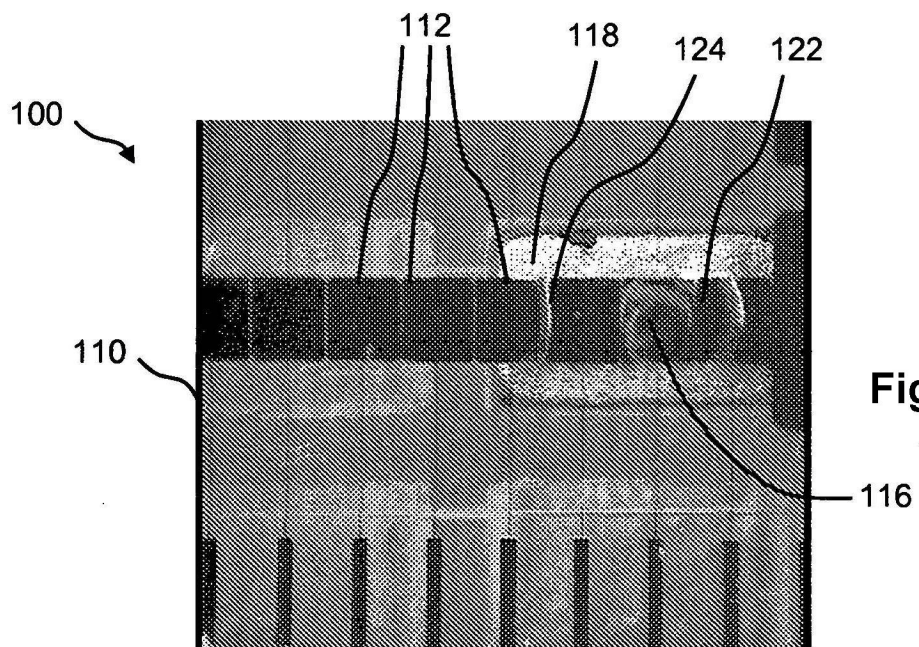


Figura 1B

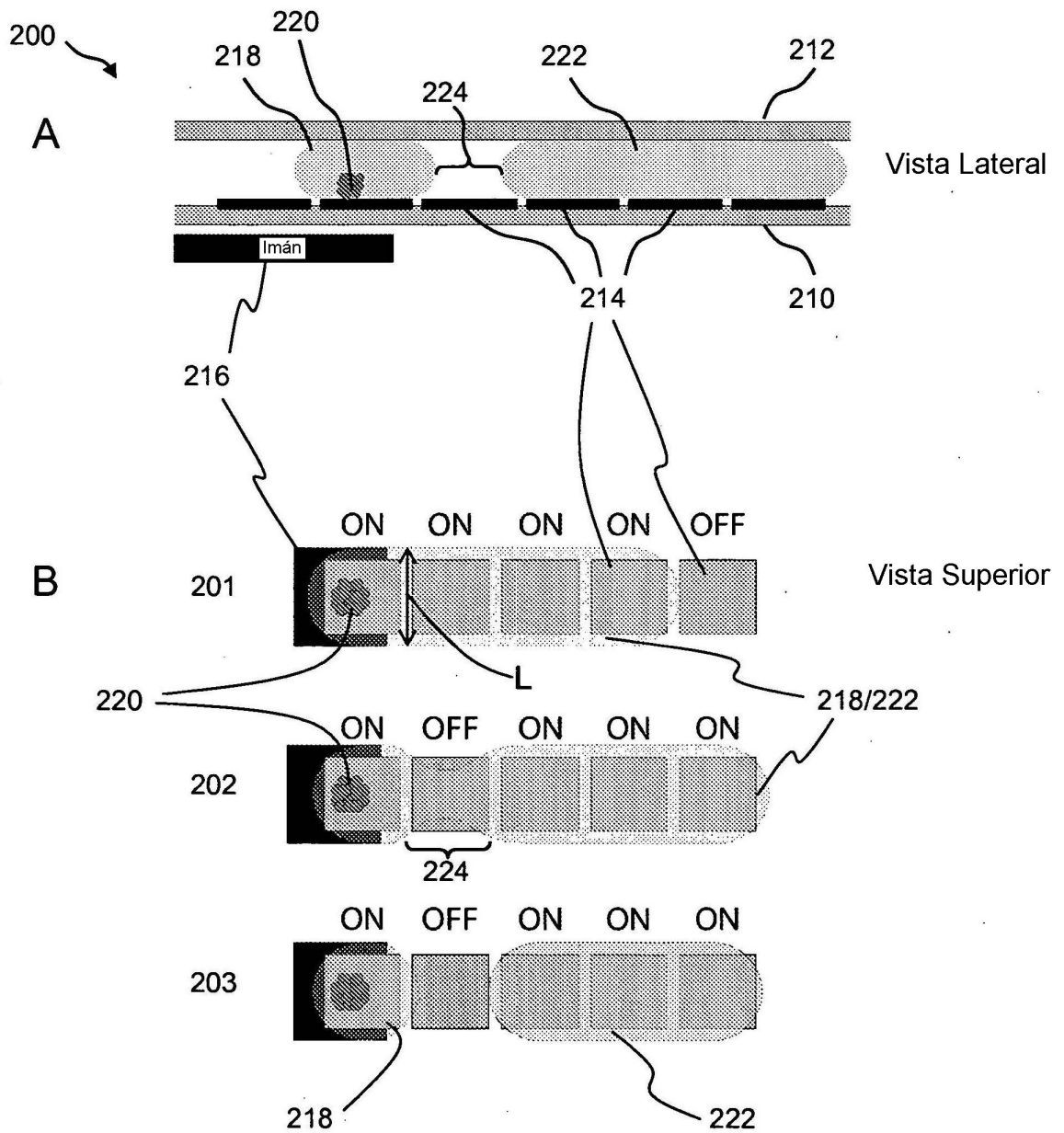


Figura 2

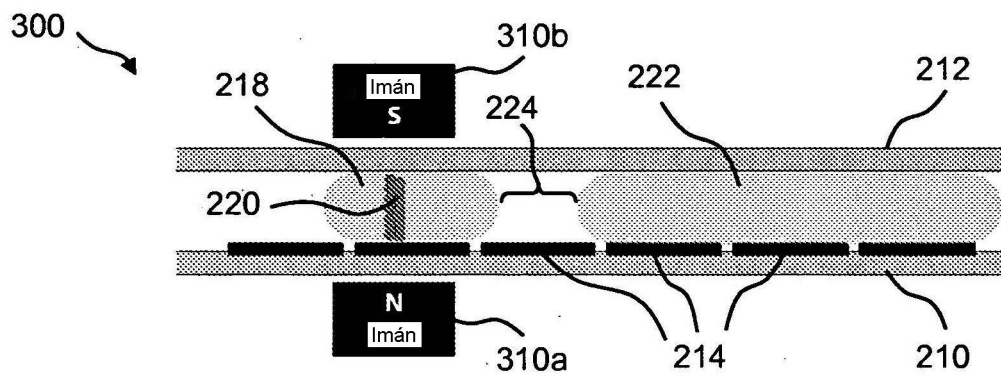


Figura 3

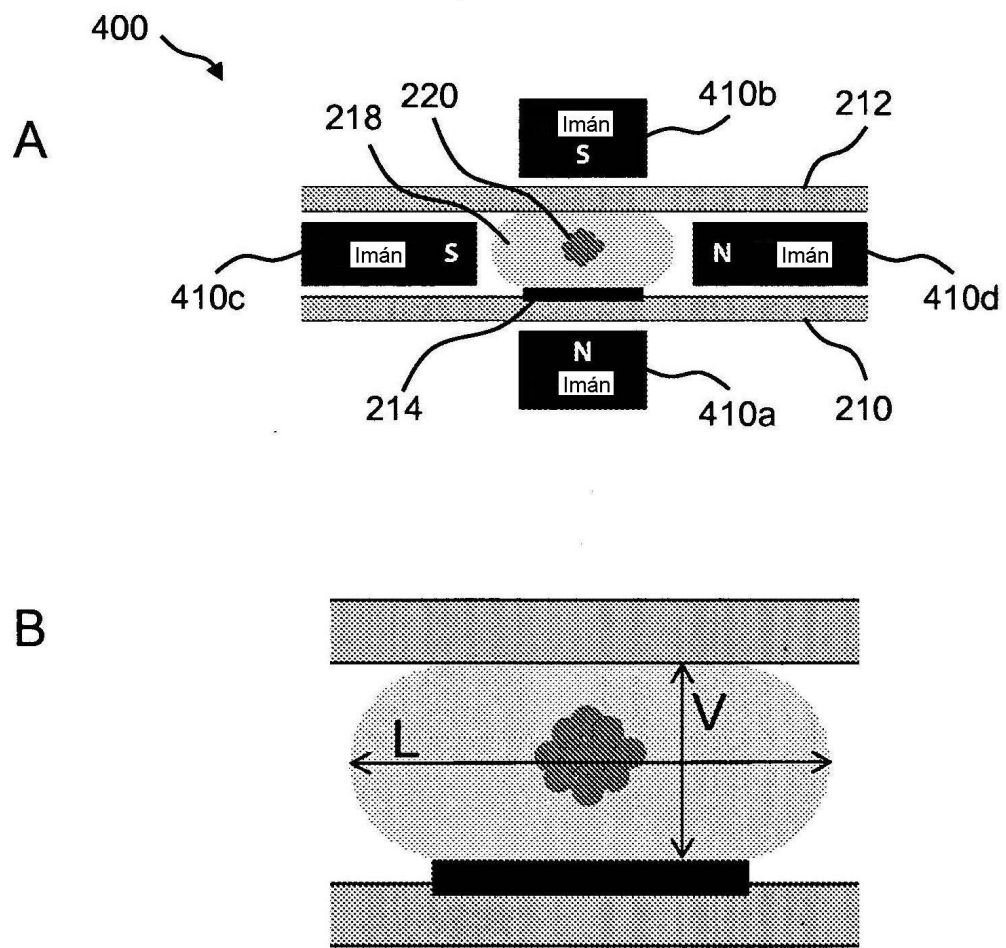


Figura 4

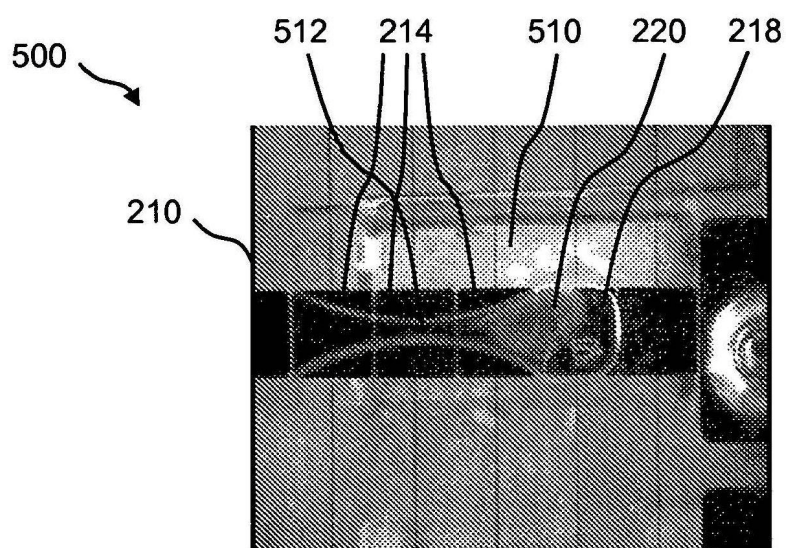


Figura 5A

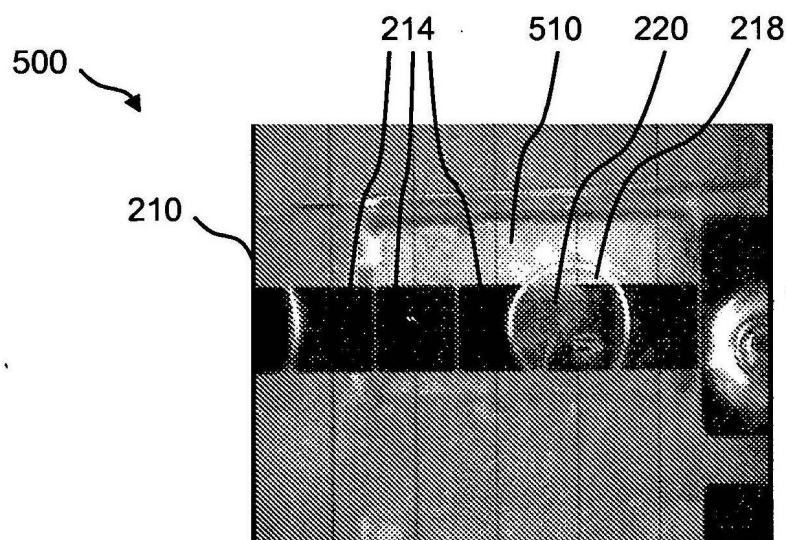


Figura 5B

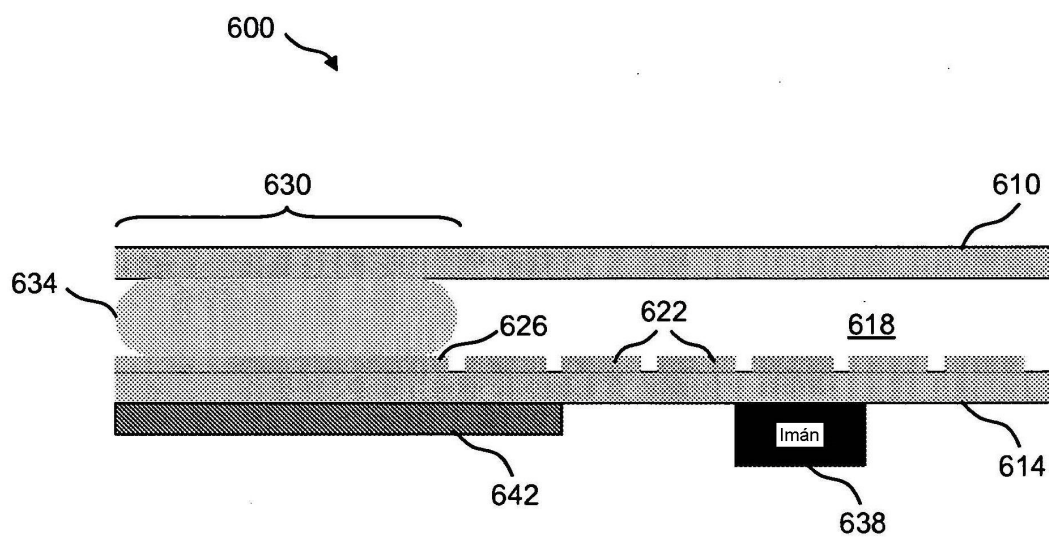


Figura 6

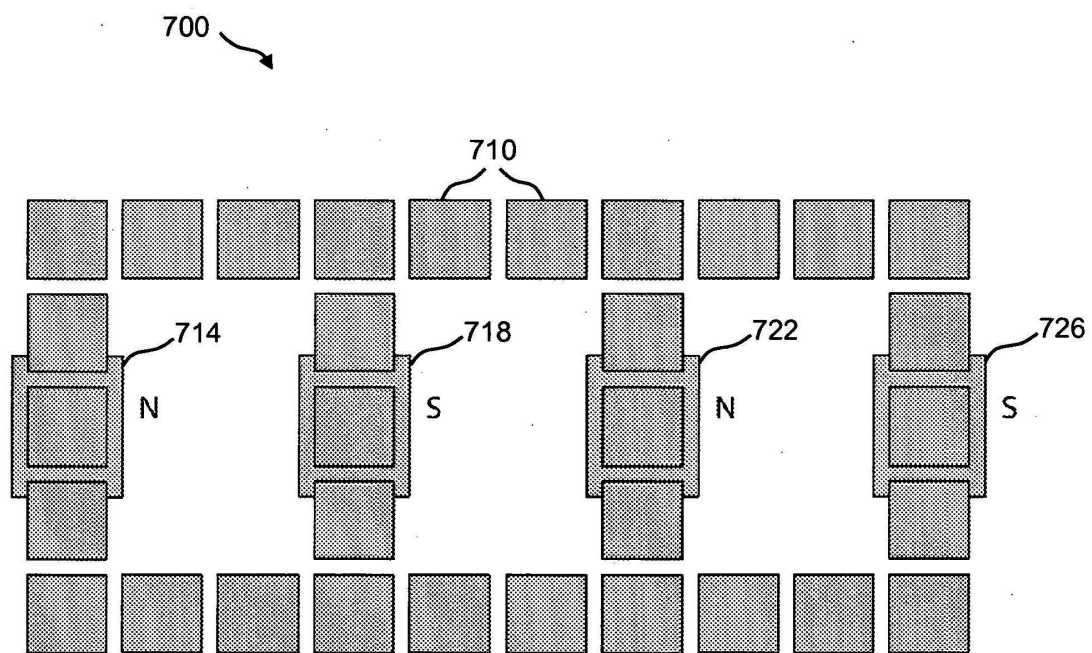


Figura 7

800

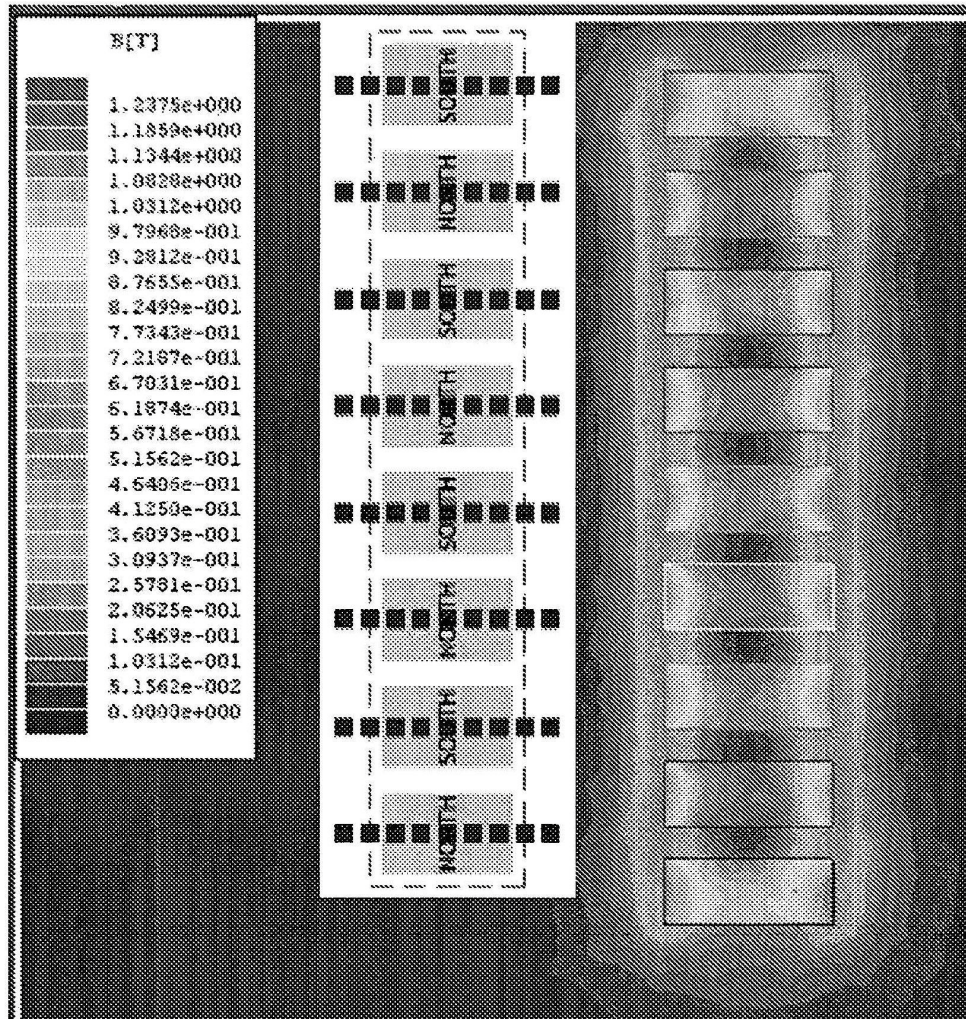


Figura 8

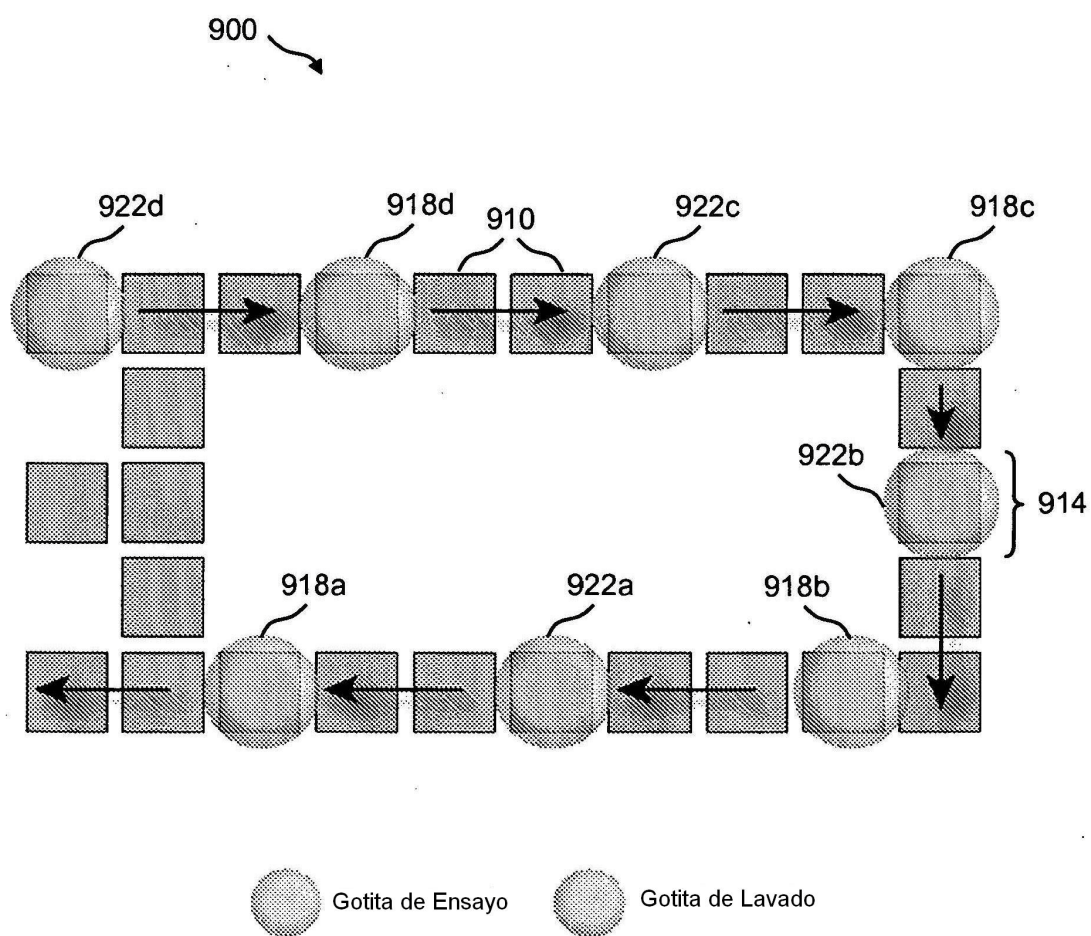


Figura 9

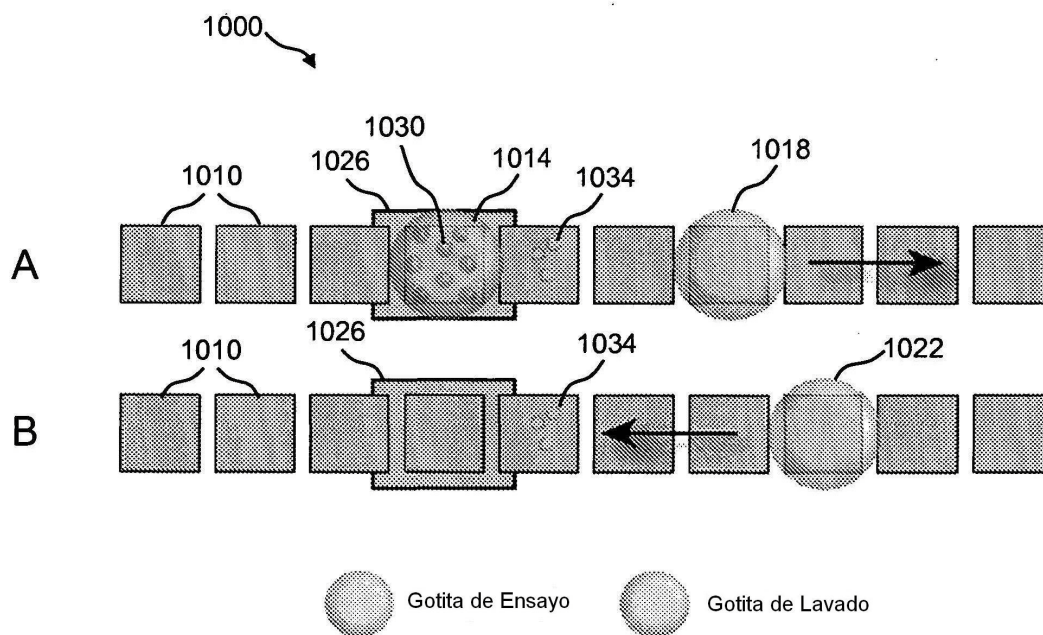


Figura 10

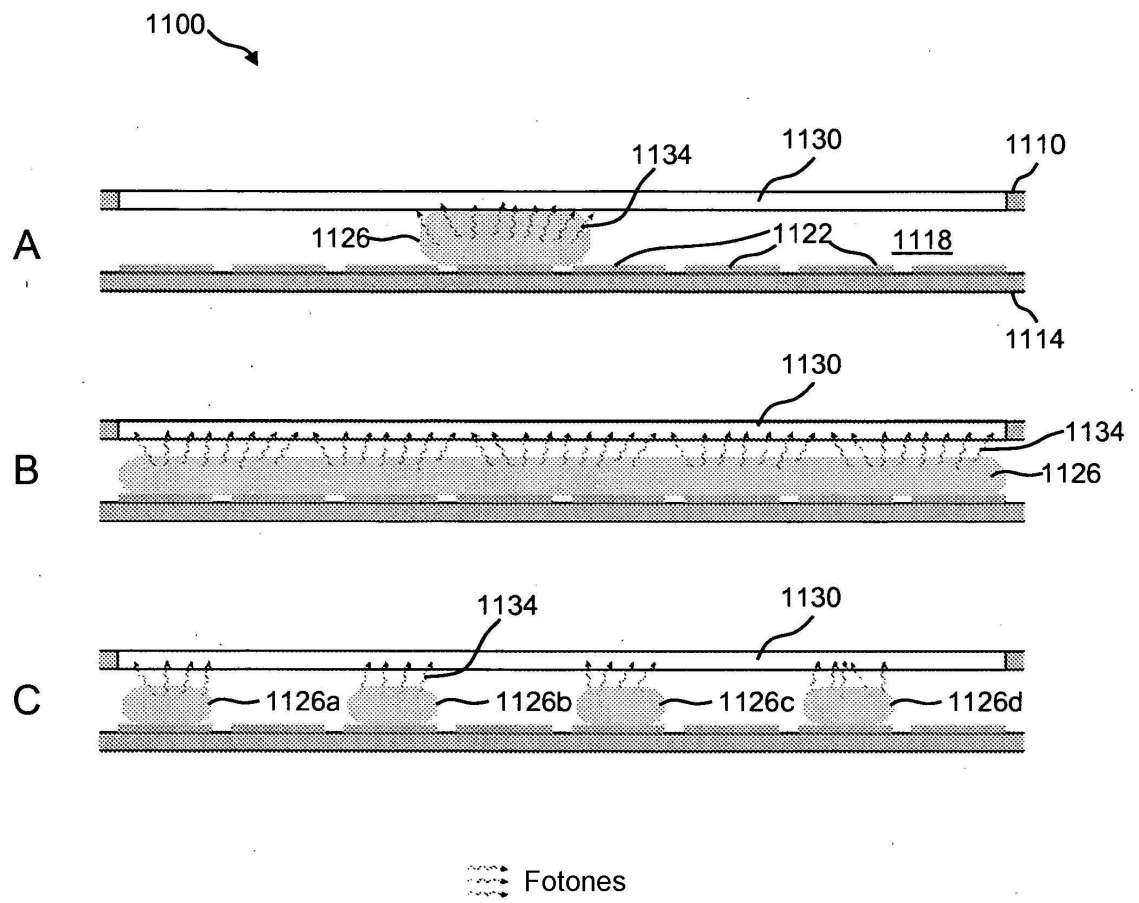


Figura 11

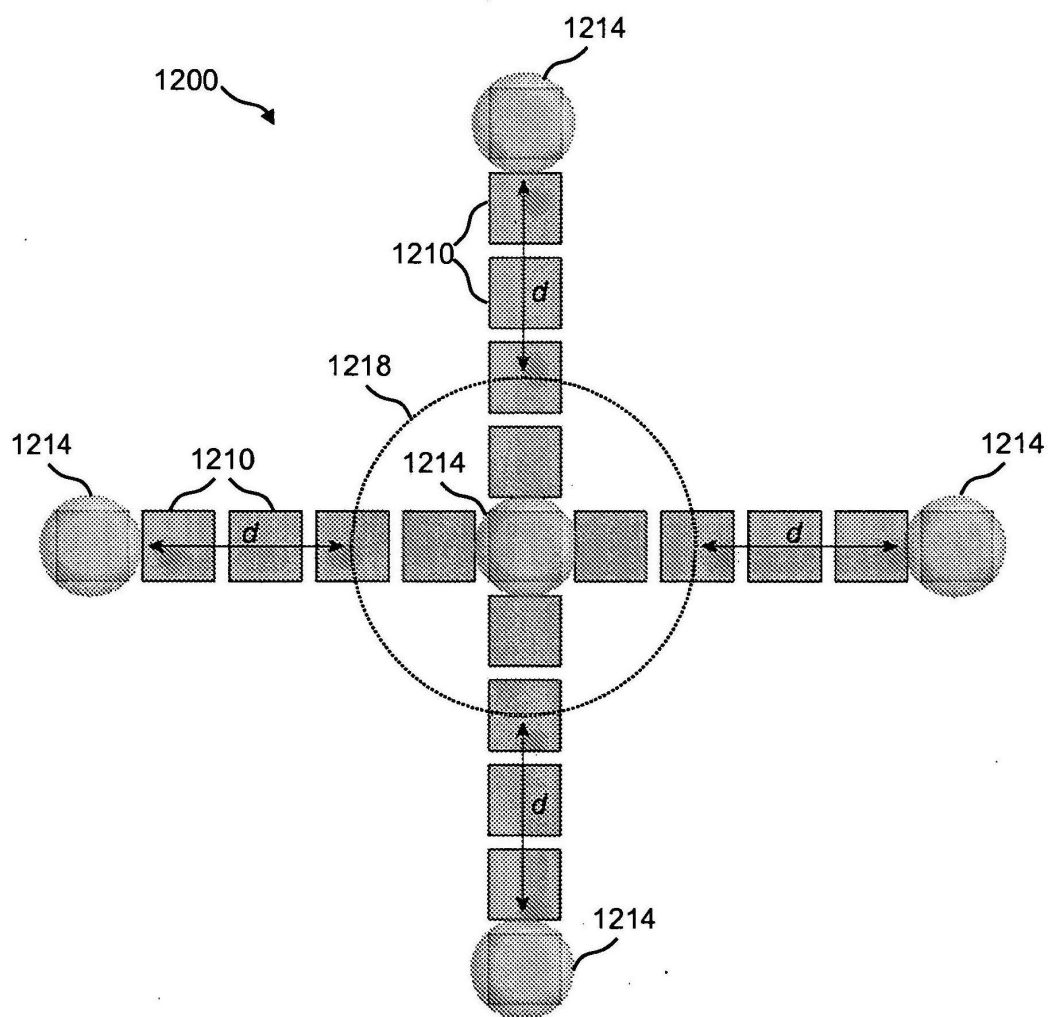


Figura 12

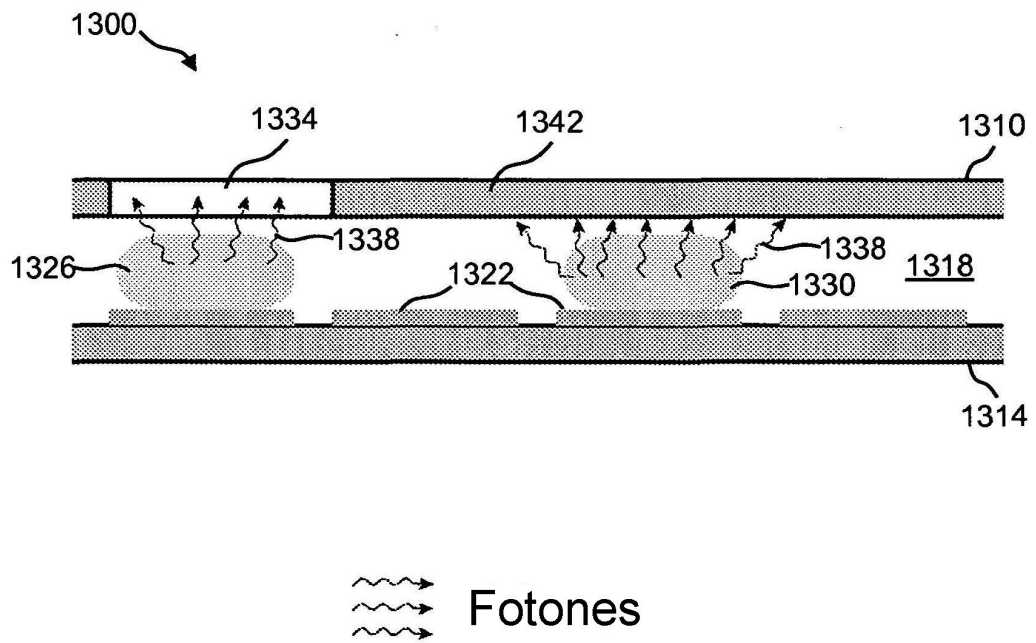


Figura 13

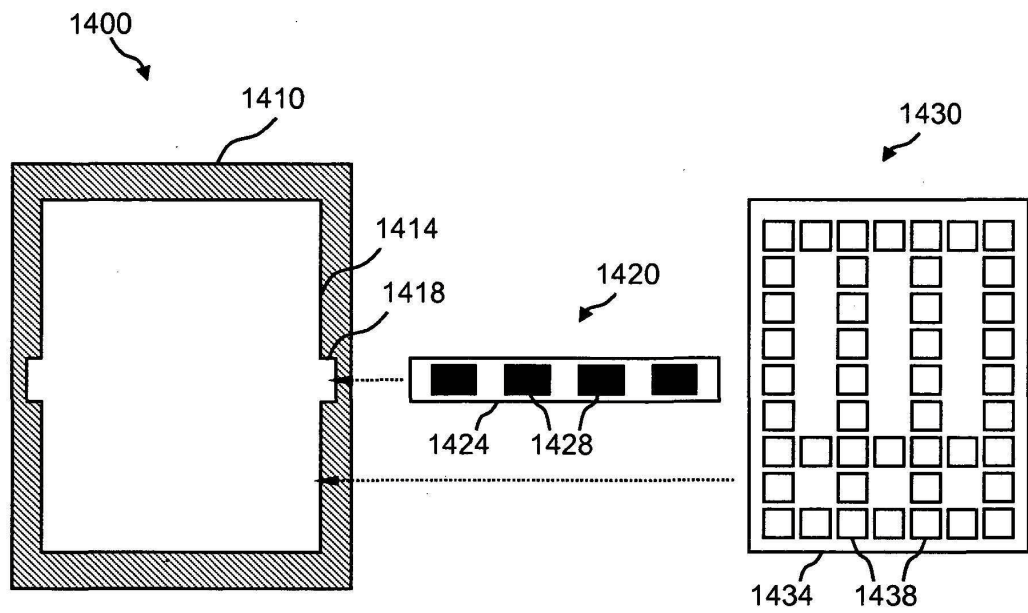


Figura 14A

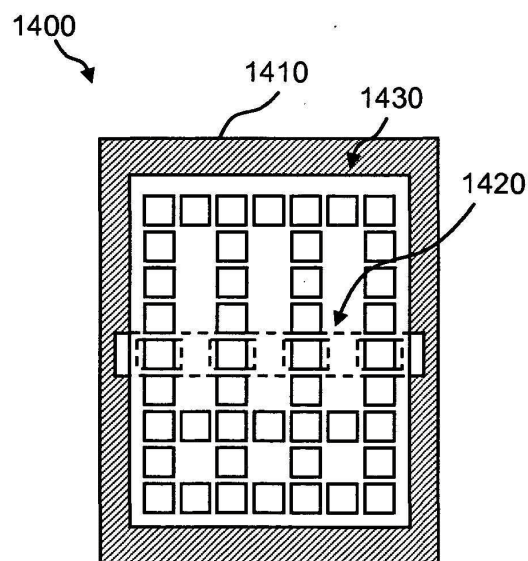


Figura 14B

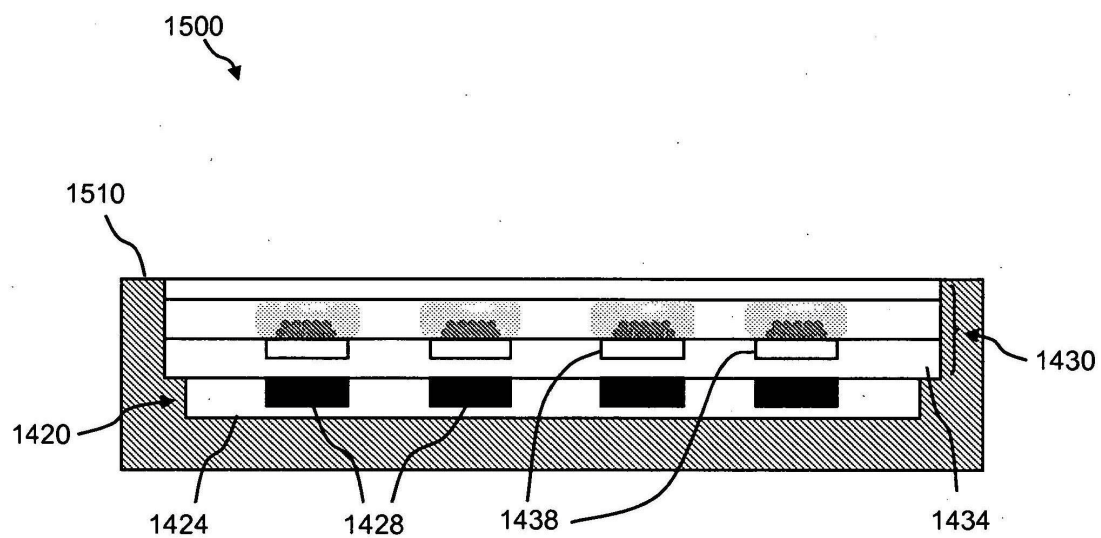


Figura 15